



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KARBAPENEM DİRENÇLİ *PSEUDOMONAS*
AERUGINOSA İZOLATLARINDA KPC (*KLEBSIELLA*
PNEUMONIAE CARBAPENEMASE) GENİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İlknur BIYIK

Samsun

Ocak-2017



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KARBAPENEM DİRENÇLİ *PSEUDOMONAS*
AERUGINOSA İZOLATLARINDA KPC (*KLEBSIELLA*
PNEUMONIAE CARBAPENEMASE) GENİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İlknur BIYIK

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI

Samsun

Ocak-2017

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İlknur BIYIK tarafından Yrd. Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI danışmanlığında hazırlanan “KARBAPENEM DİRENÇLİ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* İZOLATLARINDA KPC (*KLEBSIELLA PNEUMONİAE* CARBAPENEMASE) GENİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 16/01/2017 tarihinde yapılan sınav ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mustafa Kerem ÇALGIN
Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ONAY:

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

.... / /

Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Müdürü

TEŞEKKÜR

Bilgisini ve deneyimini yüksek lisans eğitimim süresince her zaman paylaşan, sorularımı bıkmadan sabırla cevaplayan, tez çalışmalarım süresince değerli vaktini ve bilimsel desteğini esirgemeyen, eğitimim ve tezimin gerçekleşmesinde büyük katkıları olan her konuda yardımcı ve anlayışıyla desteğini her zaman yanımda hissettiğim çok değerli hocam tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI'ya en içten dileklerle teşekkür ederim. Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ'ye, eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, en zor anlarda yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Belma DURUPINAR, Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN, Yrd. Doç. Dr. Kemal BİLGİN'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans süresince bana her konuda destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı asistan, doktora öğrencileri, yüksek lisans öğrencileri ve laboratuvar personeline; ayrıca laboratuvar çalışmalarımda beni yalnız bırakmayan kardeşim Emel BIYIK'a teşekkürü borç bilirim.

Bütün hayatım boyunca her kararımdayan yanımda olup beni destekleyen ve hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan babam, annem ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, PYO.TIP.1904.16.004 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

KARBAPENEM DİRENÇLİ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* İZOLATLARINDA KPC (*KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CARBAPENEMASE) GENİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Çalışmada, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıp Laboratuvarları Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarına gönderilmiş klinik örneklerden izole edilen 200 *Pseudomonas aeruginosa* izolatı dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen *P. aeruginosa* izolatlarında karbapenem direncine neden olan karbapenemaz enzimlerinden biri olan KPC enzimini üreten KPC geninin varlığının moleküler olarak ve çalışma izolatlarının karbapenem inaktivasyon metodu (KİM) karbapenemaz üretiminin tespit edilmesi planlandı.

Materyal ve Metot: İzolatların tanımlanması konvansiyonel yöntemler ve Vitek-MS otomatize sistemi kullanılarak yapıldı. Antibiyotik duyarlılığı Vitek2 Compact otomatize sistemi ile test edildi. *P. aeruginosa* izolatları moleküler çalışmaya kadar -20°C’de saklamaya alındı. Karbapenem dirençli izolatların kaynatma yöntemiyle DNA ekstraksiyonu yapıldı. DNA ekstraksiyonundan sonra özgün primer kullanılarak optimizasyon işlemi yapıldı. Optimizasyondan sonra Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemiyle KPC gen varlığı *P. aeruginosa* izolat araştırıldı. Ayrıca çalışma izolatlarının karbapenemaz üretimi fenotipik bir test olan KİM ile belirlendi.

Bulgular: İzolatların en fazla olarak trakeal aspirat kültüründen (% 34,5) izole edildiği saptandı. *P. aeruginosa* örneklerinin en büyük bölümü dahiliye servisinden (% 36) izole edildiği belirlendi. PZR ile *P. aeruginosa* izolatlarının hiç birinde KPC geni belirlenemedi. Çalışma suşlarına uygulanan KİM’nun sonuçlarına göre suşların 22’si pozitif, 178’si negatif olarak saptandı.

Sonuç: Bizim çalışmamızda *P. aeruginosa* izolatlarında KPC geni tespit edilmemiş ve KİM’na göre karbapenemaz üreten 22 pozitif izolat belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Karbapenem direnci; *Pseudomonas aeruginosa*; KPC geni; KİM

İlknur BIYIK, Yüksek Lisans Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Ocak-2017

ABSTRACT

INVESTIGATION OF KPC (*KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CARBAPENEMASE) GENES IN CARBAPENEM RESISTANT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLATES

Aim: This study was included 200 *Pseudomonas aeruginosa* isolates, which isolated from clinical samples and sent to Bacteriology Laboratory of Medical Microbiology Department of Medical Faculty of Ondokuz Mayıs University Medical Faculty. We aimed to investigate the presence of KPC gene producing KPC enzyme, one of the carbapenemase enzymes that cause carbapenem resistance, and carbapenem inactivation method (CIM) of study isolates, in *P. aeruginosa* isolates which were included in the study.

Material and Method: Identification of isolates was carried out using conventional methods and Vitek-MS automated system. The antibiotic susceptibility was tested with the Vitek2 Compact automated system. *P. aeruginosa* isolates were stored at -20 ° C until the molecular study. DNA extraction of carbapenem resistant isolates was performed by boiling method. After DNA extraction, optimization was performed using the original primers. After optimization, KPC gene was investigated by polymerase chain reaction (PCR) method. In addition, carbapenemase production of isolates was determined by the CIM a phenotypic test.

Results: The isolates were identified mostly from the tracheal aspirate cultures (34.5 %). The greatest proportion of *P. aeruginosa* specimens were isolated from internal medicine (36 %). KPC gene was not detected in none of the *P. aeruginosa* isolates by PCR method. According to the results of CIM, 22 were detected positive and 178 were negative.

Conclusion: In our study, KPC gene was not detected in *P. aeruginosa* isolates however 22 isolates were identified as carbapenemase producing according to the CIM results.

Keywords: Carbapenem Resistance; *Pseudomonas aeruginosa*; KPC gene; CIM

İlknur BIYIK, Master Thesis
Ondokuz Mayıs University - Samsun, January-2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

µl	: Mikrolitre
CIM	: Carbapenem Inactivation Method
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
Cm	: Santimetre
DHP-1	: Dehidropeptidaz-1
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleotid trifosfat
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EMB	: Eozin Metilen Blue
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
GSBL	: Geniş Spektrumlu Beta-Laktamazlar
I	: Orta Düzeyde (intermediate)
IMP	: İmipenem
KİM	: Karbapenem İnaktivasyon Metodu
KPC	: <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase
MBL	: Metallo-B-Laktamaz
MEM	: Meropenem
MHA	: Mueller-Hinton Agar
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
ml	: Mililitre
MR	: Metil Red
MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
NDM	: New Delhi Metallo B- Laktamaz
OprD	: Outer membrane protein D
OXA	: Oxacillinases
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	: Dirençli
S	: Duyarlı
TBE	: Tris-Borik asit-EDTA
VIM	: Verona İntegron Aracılı Metallo-B-Laktamaz

VP : Voges-Proskauer
YBÜ : Yoğun Bakım Ünitesi



İÇİNDEKİLER

ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
2.1.1. Morfolojisi.....	5
2.1.2. Kültür ve Biyokimyasal Özellikler.....	6
2.1.3. Epidemiyoloji	8
2.1.4. Patogenez.....	9
2.1.5. Virulans Faktörleri	9
2.1.6. Laboratuvar Tanısı	12
2.1.7. Klinik.....	13
2.1.8. <i>P. aeruginosa</i> enfeksiyonlarının tedavisi	16
2.1.9. Antimikrobiyal Direnç	17
2.2. Beta laktam antibiyotikler	21
2.2.1. Karbapenemler	24
2.2.2. KPC	27
3. MATERYAL VE METOT	29
3.1. Bakterilerin tanımlanması	29
3.2. Bakterilerin antimikrobiyal direncinin belirlenmesi	29
3.2.1. Vitek2 Compact (Biomeriux, Fransa) Otomatize sistemi	29
3.3. Moleküler Yöntemler	29
3.3.1. <i>P. aeruginosa</i> bakterisinden DNA ekstraksiyonu	29
3.3.2. KPC geninin standart PZR yöntemi ile araştırılması	30
3.4. Karbapenem İnaktivasyon Metodu (KİM).....	31
4. BULGULAR	32
4.1. <i>P. aeruginosa</i> İzolatlarının İzole Edildikleri Örnek Türleri ve Klinik Servisler	32
4.2. <i>P. aeruginosa</i> izolatlarının antimikrobiyal duyarlılığı.....	33
4.3. Karbapenem inaktivasyon metodu (KİM) sonuçları.....	34
4.4. KPC geni için PZR işlemi	35

4.4.1. KPC gen bölgesi için PZR işlemi sonuçları	35
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	44
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	55



1.GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*), yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan; gram negatif, nonfermentatif, oksidaz ve katalaz pozitif bir basildir. Özellikle immun sistemi zayıf olan bireylerde hastalıklara neden olabilen fırsatçı bir patojen bakteridir. Yoğun bakım ünitesi (YBÜ)'nde gelişen pnömonilerin en sık nedeni olan *P. aeruginosa*, nozokomiyal enfeksiyon etkeni gram negatif bakteriler arasında ikinci sırada yer almaktadır (Carmeli ve ark., 1999; Richards ve ark., 1999).

Antibiyotiklere karşı bakterinin geliştirdiği kazanılmış direnç oranları tüm dünyada giderek artmaktadır (Pier ve Ramphal, 2005; Aloush ve ark., 2006; Falagas ve ark., 2006; Giamarellos-Bourboulis ve ark., 2006). Birçok antibiyotiğe karşı doğal olarak dirençli olan *P. aeruginosa*; ayrıca yüksek oranda kazanılmış direnç geliştirebilme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle tedavisi güç olan ve hayatı tehdit eden ciddi enfeksiyonların oluşmasına neden olmuştur (Defez ve ark., 2004; Hsu ve ark., 2005; Falagas ve ark., 2006; Kaye ve ark., 2006). Yapılan çalışmalarda sıklıkla YBÜ'lerden izole edilen çoklu antibiyotiğe dirençli bakteri türünün *P. aeruginosa* olduğu bildirilmiştir (Cesur ve ark., 2002; Ersöz ve ark., 2004; Pullukçu ve ark., 2006; Kurtoğlu ve ark., 2008; Dündar ve Tamer, 2009). Nozokomiyal enfeksiyon etkeni *P. aeruginosa* suşları dünya genelinde önemli bir sorun haline gelen antibiyotiklere karşı çoklu direnç geliştirmiş; karbapenem grubu antibiyotiklere dirençli *P. aeruginosa* suşlarıyla meydana gelen enfeksiyonların sıklığında son yıllarda önemli bir artış görülmüştür (Üstün, 2010).

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisinde karboksipenisilinler (karbenisilin, tikarsilin), üreidopenisilinler (azlosilin, piperasilin), bazı 3. kuşak sefalosporinler (seftazidim, sefsulodin, sefaperozon), tüm 4. kuşak sefalosporinler, aztreonam, karbapenemler (imipenem, meropenem), kinolonlar (siprofloksasin, levofloksasin), aminoglikozidler (gentamisin, tobramisin, amikasin), tetrasiklinler (tetrasiklin, doksisisiklin, minosiklin) kullanılmaktadır (Erdem, 1999; Bilgehan, 2000).

Betalaktam antibiyotiklere karşı kromozomal veya plazmit kaynaklı betalaktamazların üretimi direnç gelişmesine neden olmaktadır. *P. aeruginosa*'da betalaktamazların belirlenmesi *Enterobacteriaceae*'daki kadar sık değildir; fakat yapılan çalışmalarda sıklığının giderek arttığı ve çeşitlilik gösterdiği belirlenmiştir (Livermore,

2002; Blondel-Hill ve ark., 2007). En sık görülen betalaktamazlar PSE-1 ve PSE-4 enzimleridir (Hancock ve Speert, 2000). Genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar da *P. aeruginosa*'da tanımlanmıştır (Boromo ve Szabo, 2006). OXA enzim ailesi (Ambler moleküler sınıf D) en sık *P. aeruginosa*'da saptanmıştır; ayrıca *P. aeruginosa*'da serinproteaz ve metalloenzimleri (Ambler moleküler sınıf B) aracılığıyla karbapenemlere direnç gelişmektedir (Livermore, 2002).

Efluks pompaları antibiyotiklere direnç gelişmesinde *P. aeruginosa*'da önemli mekanizmalardandır. Efluks pompa sistemleri üç protein kısmından oluşmaktadır; sitoplazmik zar da yer alan enerji bağımlı bir pompa, dış membran porini ve her iki protein arasında ilişkiyi sağlayan bağlantılı bir proteindir (Lambert, 2002). *P. aeruginosa*'da farklı antibiyotik efluks pompaları tanımlanmıştır.

P. aeruginosa, dış zar geçirgenliğinin az olması, çeşitli efluks pompalarının konstitutif ekspresyonu ve β -laktamaz yapımı sayesinde birçok β -laktama intrensek olarak dirençlidir. Öte yandan *P. aeruginosa* sık sık kromozomal mutasyonlar geçirir. Böylece porin değişikliğine uğramış, kromozomal sefalosporinaz AmpC'yi aşırı üreten ya da efluks pompalarının işlevi artmış mutantlar ortaya çıkar. Antibiyotik baskısının bu mutantları seleksiyona uğratması, çoğul dirençli bir *P. aeruginosa* popülasyonunun ortaya çıkmasına neden olur. *P. aeruginosa*, kromozomal direncin yanı sıra, özellikle geniş spektrumlu β -laktamlara karşı, edindiği PER-1 gibi genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar aracılığıyla da direnç geliştirir (Mesaros ve ark., 2007).

Pseudomonas türlerindeki karbapenem direnci, bir karbapenemazın ekspresyonuna bağlı olabileceği gibi, dış zar geçirgenliğindeki azalmaya ek olarak aslında karbapenemaz etkinliği olmayan β -laktamazların aşırı ekspresyonu sonucunda da ortaya çıkabilir (Rodriguez-Martinez ve ark., 2009). *Pseudomonas* türlerinde karşılaşılan karbapenemazlar arasında KPC ve GES gibi Ambler'in moleküler sınıflandırmasına göre sınıf A'da ve OXA-198 gibi sınıf D'de yer alan serin β -laktamazlar vardır (Villegas ve ark., 2007; El Garch ve ark., 2011). *Pseudomonas* türlerinde bugüne değin saptanmış karbapenemazların büyük bir çoğunluğunu ise VIM, IMP, SPM, GIM, AIM, DIM ve NDM gibi sınıf B'de yer alan metallo- β -laktamaz (MBL)'lar oluşturur (Cornaglia ve ark., 2011; Jovcic ve ark., 2011).

Bizim çalışmamızda, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen hastalardan izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarında karbapenem

antibiyotiklerine direnç gelişiminden sorumlu olan enzimlerden biri olan KPC (*K. pneumoniae* carbapenemase) direnç enzimini kodlayan *KPC* geninin varlığının araştırılması amaçlanmıştır; literatür araştırmamıza göre ülkemizden böyle bir bildirim bulunmamaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa, 1850'de Sedillot tarafından cerrahi yara pansumanlarında mavi renk değişikliği yapan bir ajan olarak tanımlanmıştır. İlk olarak *Bacillus pyocyaneus* ve daha sonra *Pseudomonas pyocyanea* olarak adlandırılmıştır. Piyosiyanin izolasyonu Lucke tarafından 1862'de yapılmıştır. Ancak bu organizma, Gessard'ın klasik çalışmaları ile 1882'de saf kültür halinde izole edilmiştir. Hitschman ve Kreibich 1897'de, Frenkel 1917'de ve Osler'de 1925'te patojen bir bakteri olduğunu tanımlamışlardır. California Üniversitesi'ndeki Dooren de Jong 1926 yılında, *Pseudomonas* türlerini, çeşitli organik bileşiklerin karbon ve enerji kaynağı olarak kullanımına dayanan fenotipik özelliklerin göre sınıflandırmışlardır. Buchanon, Holt ve Lessel 1966'da *Pseudomonas* türlerini fenotipik özelliklerine göre sınıflamışlardır. Daha sonra DNA hibridizasyon çalışmaları başlamıştır. Palleroni ve arkadaşları 1973 yılında, nükleik asit hibridizasyon çalışmalarını genişleterek *Pseudomonas*'ları rRNA homolojilerine göre 5 gruba ayırmışlardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu cinsin sınıflandırılması yeniden düzenlenmiştir (Aydın, 2001).

Pseudomonas cinsinde yer alan *P. aeruginosa* rRNA homolojisine göre rRNA homolojik grup I de yer almaktadır (Tablo 1). Bu grupta *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. alcaligenes* ve *P. pseudoalkaligenes* yer almaktadır (Ustaçelebi ve ark., 1999).

Tablo 1. *P. aeruginosa* ve yakın bakterilerin rRNA homoloji grupları (Ustaçelebi ve ark., 1999)

I Fluoresan Grubu	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>P. fluorescens</i> <i>P. putida</i>
Non- Fluoresan Grubu	<i>P. stutzeri</i> <i>P. mendocina</i>
II	<i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>B. mallei</i> <i>B. cepacia</i> <i>B. picketti</i>

Tablo 1. Devamı

III	<i>Camamonas acidovorans</i> <i>C. testosterani</i>
IV	<i>P. dimunita</i> <i>P. vesicularis</i>
V	<i>Xantomonas maltophilia</i>

P. aeruginosa doğada yaygın olup, çoğunlukla hastanelerdeki nemli ortamlarda bulunmakta, normal insan florasında saprofit olarak kolonize olabilen bu bakteri konak savunmasının bozulduğu durumlarda hastalıklara neden olmaktadır (Willke Topçu ve ark., 2008).

2.1.1. Morfolojisi

Uzunlukları çok değişik olmakla beraber *Pseudomonas aeruginosa* 1,5-3 µm genişliğinde, bazen ikili bazen de kısa zincirler halinde görülen sporsuz, kapsülsüz, çubuk şeklinde aerob bakteridir. Çoğu kez bir uçlarında bir, nadiren iki-üç adet kirpiği vardır ve çok hareketlidirler (Şekil 1). Kolay boyanırlar ve Gram negatiftirler. Uzun süre beklemiş kültürlerinde ve antiseptik maddelerin bulunduğu ortamlarda kısa veya çok uzun deforme şekilleri, hareketsiz ve pigmentsiz olanları, R (rough) tipinde üreyenlerin bulunduğu bildirilmiştir (Davis ve ark., 1968; Frobisher, 1968; Özan, 1996).

Hücrenin dış yüzeyinde kapsüle benzeyen glikokaliks tabakası bulunur. Bu tabakanın D-mannuronik ve L-glukronik asitler başta olmak üzere poliüronik asitten oluşan aljinik asit yapısında polisakkaritten oluştuğu saptanmıştır (Pratt ve Kolter, 1999).



Şekil 1. *P. aeruginosa*'nın morfolojik yapısı (URL1)

2.1.2. Kültür ve Biyokimyasal Özellikler

P. aeruginosa zorunlu aerob, nitratlı ortamlarda ve arjinin varlığında anaerob da üreyebilirler. Üreyebilmek için oksijene ihtiyaç duyduğundan sıvı besiyerlerinde yüzeyde zar oluşturarak ürer ve zarın hemen altında mavi-yeşil pigmenti ile ayırt edilebilir. Laboratuvar şartlarında triptik soy agar, koyun kanlı agar, çukulata agar, Mueller Hinton agar (MHA), endo ve Mac Conkey gibi besiyerlerinde 30-37 °C'de kolaylıkla üreyebilir; 42 °C'de üreyebilme özelliği ile diğer *Pseudomonas* türlerinden ayrılır (Tablo 2), ancak 4 °C'de üremez (Vahaboğlu ve Akhan, 2008; Hill ve ark., 2009).

Tablo 2. *Pseudomonas* genusunda yer alan bazı türlerin ayırıcı özellikleri (Winn ve ark., 2006; Forbes ve ark., 2007)

Türler	Hareket	Oksidaz	Katalaz	Jelatinaz	42 °C'de üreme	Nitrat redüksiyonu	Piyoverdin üretimi	Maltoz kullanabilme	Mannitol kullanabilme	Asetamid
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	D	+	+	+	d	d	+
<i>P. fluorescens</i>	+	+	+	+	-	-	+	d	+	-
<i>P. putida</i>	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-

Tablo 2. Devamı

<i>P. sututzeri</i>	+	+	+	-	-	-	+	d	d	-
<i>P. mendocina</i>	+	+	+	-	-	+	-	+	d	-

+, pozitif, -, negatif, d; deęişken

P. aeruginosa' nın bazı biyokimyasal özellikleri şöyledir;

-Kanlı agarda hemoliz yaparlar. Kanlı agarda üreyen klinik izolatlar sıklıkla beta hemolitiklerdir.

-Jelatin ve koagule plazmayı eriterek parçalarlar.

-Glikozu oksidatif yolla parçalayıp asit yaparlar. Laktoz ve sakkarozu kullanamazlar.

-Oksidaz pozitif olmaları ile *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinden ayrılırlar.

-Asetamini deamine ederek amonyak oluştururlar.

-Nişastaya etki etmezler.

-Katalaz ve sitrat reaksiyonları pozitifdir.

-L-arjinin dihidrolaz oluştururken, lisin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilaz oluşturamazlar.

-İndol ve H₂S oluşturamazlar.

-Metil Red (MR) ve Voges-Proskauer (VP) negatifdir.

-Nitrati nitrite redükte ederler.

-Tetrazolyum tuzlarını ve seleniti redükte ederler.

-Potasyum siyanüre dirençlidirler.

-*P. aeruginosa*, *P. fluorescens'* den ayrı olarak metilen mavisini ve prontosilin rengini giderir (Wilson ve Miles, 1964; Frobisher, 1968; Özan, 1996; Ilgaz, 1999).

Kültür ortamı ve organizmada hidrosiyamik asit yapma özelliğine sahiptir. *P. aeruginosa* ve *P. fluorescens* aynı bakterilerin diğer kökenlerine etki ederek onları eriten bakteriyosinler yaparlar. Bakteriyosin tiplendirmesi, *P. aeruginosa* kaynaklı hastane enfeksiyonu salgınlarında epidemiyolojik takip için kullanılan yöntemlerden

biridir. *P. aeruginosa* piyoverdin (yeşil-sarı) ve piyosiyanin (mavi-yeşil) floresan pigmentleri yapar. Klinik izolatların çoğunda piyosiyanin olduğu için nötr veya alkali ortamda mavi-yeşil görülür, bu pigmentten dolayı *P. aeruginosa* tür adı verilmiştir. Ayrıca bu pigmentler uzun dalga boyu UV ışığında floresan verir (Vahaboğlu ve Akhan, 2008; Hill ve ark., 2009).

P. aeruginosa'nın kültürdeki aromatik meyve kokusu, 2-aminasetofenon kaynaklıdır ve bu özellik bakteri için karakteristiktir (Topçu, 2008).

2.1.3. Epidemiyoloji

P. aeruginosa 2-42°C gibi geniş ısı aralıklarında yaşayabilir; ayrıca sağlıklı insan ve hayvanlarda kolonize olabilir (Ustaçelebi ve ark., 1999). *Pseudomonas* türleri farklı çevresel yerleşim gösteren fırsatçı bir patojendir. Havadan, sudan, bitki ve hayvanlardan izole edilebilir. Üremesi için çok az besin maddesine ihtiyaç duyar, distile su içinde bile üreyebilir. Bu özellikleri *P. aeruginosa*'yı çok etkili bir fırsatçı patojen yapar (Erdem, 1999).

P. aeruginosa çok yaygın bulunan bir bakteri olsada sağlıklı insanlarda nadiren enfeksiyonlara neden olmaktadır. Sağlıklı kişilerde kolonizasyon olduğunda oranları; boğaz % 0-6.6, ciltte % 0-2, burun mukozasında % 0-3.3 ve dışkıda % 2.6-24 olmaktadır. Ancak kolonizasyon yatan hastalarda % 50'yi geçebilir. Özellikle deri ve mukoza bütünlüğü bozulduğu travmalarda, cerrahi girişimde bulunulmuş, mekanik ventilasyon kullanılan, katater takılı ve ağır yanıklı hastalarda kolonizasyonda büyük artış görülebilir. Bağışıklığı baskılanmış hastalarda *P. aeruginosa* kolonizasyonun görülmesi hastalar için risk oluşturmaktadır. Sık antibiyotik tedavisi alan hastalarda normal flora bozulur ve değişik bölgelerde *Pseudomonas* kolonizasyonu artabilir (Lister ve ark., 2009).

Hastane enfeksiyonlarında 1940'lara kadar streptokoklar başta gelirken, antibiyotiklerin kullanıma girmesiyle stafilokoklar baskın hale gelmiştir. Penisilinlere dirençli stafilokoklara etkili antibiyotiklerin kullanımının 1960-1970'li yıllarda artmasıyla *Enterobacteriaceae* grubu bakteriler ve *P. aeruginosa* gibi gram negatif basiller ön plana çıkmaya başlamıştır (Wenstern ve Heiden, 2007).

2.1.4. Patogenez

P. aeruginosa sağlıklı insanlarda saprofit olarak bulunur ve nadiren hastalığa neden olur. Yanık, HIV enfeksiyonu, savunma mekanizmasının zarar görmüş olması, uzun süre geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı gibi durumlarda enfeksiyona neden olurlar. Bu durum “oportunistik aderans” olarak tanımlanır (Koh ve ark., 2005). *P. aeruginosa* enfeksiyonu kolonizasyon, invazyon ve sistematik yayılım olarak üç aşamada gerçekleşir. Enfeksiyon, kolonizasyon aşamasında da kalabilir ya da sistematik enfeksiyona ilerleyebilir. Bunda bakterinin virülans faktörleri ve konağın bağışıklık sistemi etkilidir (Bergogne-Berezin, 2004).

2.1.5. Virülans Faktörleri

P.aeruginosa pek çok virülans faktörüne sahiptir. Virülans faktörlerinin rolü ve önemi, doğal ve kazanılmış bağışık yanıt ve enfeksiyonun olduğu vücut bölgesi gibi bazı konak faktörleri tarafından etkilenir. Virülans faktörleri ile konak faktörleri arasındaki bu denge enfeksiyonun hafif veya ağır geçmesini belirleyen kriterdir (Çakar, 2005) (Tablo 3).

Tablo 3. *P. aeruginosa*'nın virülans faktörleri ve biyolojik etkileri (Topçu, 2008)

Virülans faktörleri	Biyolojik etkileri
Yapısal Faktörler	
Kapsül	Mukoid polisakkaridin yapılması Adhezyon sağlanması Antibiyotiklerin bakterisidal etkisinin azaltılması
Nöraminidaz	Nötrofil ve lenfosit aktivasyonunun önlenmesi. Pilusların adhezyonunun kolaylaştırılması
Piluslar ve nonpilus Adhezinler	Akciğer ve yara yerine adhezyon sağlanması
Lipopolisakkarid	Endotoksik aktivite
Pyosiyenin	Siliyer fonksiyonunun bozulması İnflamasyonun başlatılması Toksik oksijen radikallerinin salınması ve doku hasarı

Tablo 3. Devamı

Toksin ve Enzimler	
Ekzotoksin A	Protein sentezinin EF2 etkileyerek önlenmesi Doku hasarının oluşması
Ekzototoksin S	İmmünsüpresyonun sağlanması
Sitotoksin	Protein sentezinin önlenmesi, immünosüpresyon Lökosit fonksiyonlarının bozulması
Elastaz, Alkalın proteaz	Pulmoner mikrovasküler yapıların hasarlanması
Fosfolipaz C	Elastin içeren dokuların harabiyeti
Rhamnolipid	İnflamasyonun başlatılması Lesitin içeren dokuların harabiyeti ve pulmoner silyer aktivitenin inhibisyonu

Alginat

Bakteri hücre yüzeyinde yer alan; mukoid ekzopolisakkarit yapıdaki alginat bakteriyi çevreleyerek konak immün sisteminden koruyan polisakkarit kapsülü oluşturur. Bakteriyi konak hücre yüzeyine sabitler. Biyofilm yapımında rol oynar ve bazı antibiyotiklere karşı direnç gelişimine neden olur. Bakteriyi fagositozdan korur ve aminoglikozidlerin bakterisidal etkisini bozabilir. Özellikle kistik fibrozisli hastalardan elde edilen suşlarda alginat üretimi artmıştır (Franklin ve ark., 2011).

Elastaz

Konağın akciğer ve damar yapısında bulunan elastini parçalayarak yapısını bozar. İmmünglobulinleri ve tamamlayıcı bileşenleri parçalayarak nötrofillerin aktivitesini bozar (Ustaçelebi ve ark., 1999; Willke Topçu ve ark., 2008).

Adhezinler

P. aeruginosa'nın yüzeyinde pili ve nonpili hücre yüzey komponentleri olarak ayrılabilen iki tip protein adezini tanımlanmıştır. Bunlardan biri polar yapıdaki pili veya fimbriya, diğeri ise aljinat veya mukoid ekzopolisakkarittir (Erdem, 1999).

Pyosiyenin

Pyosiyenin, mavi pigment oluşturan kimyasal bir yapıdır. *P. aeruginosa* için karakteristiktir. Asidifikasyonla rengi önce sarıya sonra da kırmızıya dönebilir, alkali ortamlarda ise renksizleşebilir. Suda ve kloroformda çözünür. Sıvı besiyerlerinden yapılmış bakteri kültürlerine eşit miktarda kloroform eklenir ve çalkalanırsa bu pigment besiyerinin içinde çökmüş halde bulunan kloroform içerisinde kristalize olarak koyu mavi renkte gözlenir. Piyosiyenin üretimi King A besiyeri kullanılarak arttırılabilir. *P. aeruginosa* suşları 37 °C' de 5 gün inkübe edildiğinde, suşların % 80' i pyosiyonin oluşturur. Oda sıcaklığında 3-4 gün bırakıldığında agar kültürlerinde pigmentasyonda artış gözlenir (Wilson ve Miles, 1964; Aydın, 2001). Piyosiyenin yapımı quorum-sensing (QS) sistemi tarafından düzenlenir. Diğer bakterileri baskılayıcı özelliği vardır. Konak hücre solunumunu inhibe eder, mukosiliyel aktiviteyi bozar, epidermal hücre büyümesine neden olur ve kalsiyum dengesini bozar (Lau ve ark., 2004).

Endotoksin

Pseudomonas endotoksini lipit A, diğer bakteriyel lipopolisakkaritler gibi organizmanın biyolojik etkisini düzenler (Erdem, 1999). Lipopolisakkarit, ateş, şok, oligüri, lökositoz ve lökopeni, DIC ve ARDS gibi tablolarda rol oynar (Gür, 2010).

Ekzotoksin A

P. aeruginosa tarafından üretilen en önemli, virulans faktörlerinden biridir. Monositlerden toksik oksijen radikallerinin salınımını artırması bu bakteri ile enfekte hastalarda oluşan kronik akciğer enfeksiyonlarında doku hasarına neden olmaktadır. Ekzotoksin A, difteri toksini ile aynı intrasellüler etki mekanizmasına sahiptir ancak, neden olduğu enfeksiyon tipi farklılık göstermektedir. Bunun nedeni ekzotoksin A'nın, difteri toksininde görüldüğü gibi kana karışarak vücudun diğer bölümlerine yayılmayıp, yerel etki göstermesidir. Bakterinin oluşturduğu ekzotoksin A miktarı suşa bağlı olarak değişir ve toksin yapan suşlar bakteriyemik insan suşlarında daha virulandır (Çelik, 2007; Vahaboğlu ve Akhan, 2008).

Ekzotoksin S

Ekzoenzim S, ekzotoksin A gibi bir adenzindifosfat ribozil transferazdır. Hedef proteini henüz tanımlanmamıştır. Saf ekzoenzim S, fareler için toksiktir. Doku

kültürlerindeki hücrelere sitopatik etki gösterir. Ekzoenzim S salgılamayan suşlar deneysel yanık ve kronik akciğer enfeksiyonlarında daha az virulandır (Erdem, 1999). Bakterinin yayılmasını ve invazyonunu kolaylaştırır, nekroza neden olur (Murray ve ark., 2008).

Alkalin proteaz

Elastaza benzer şekilde alkalin proteaz da dokularda nekroza ve *P.aeruginosa* enfeksiyonunun yayılımına neden olur ve ayrıca konak bağışık yanıtına etkilidir (Willke Topçu ve ark., 2008; Çıragil, 2010).

Hemolizinler

P. aeruginosa iki çeşit hemolizin oluşturur. Bunlardan birisi ısıya duyarlı fosfolipaz C, diğeri ise ısıya dayanıklı rhamnolipittir. Bu iki madde sinerjistik olarak hareket ederek lipidleri ve lesitini hasara uğratar. Proteazlar gibi hemolizinler de nekroz yaparak, enfeksiyon etkeninin doku invazyonuna yardımcı olur (Erdem, 1999).

2.1.6. Laboratuvar Tanısı

Enfeksiyon tipine göre deri lezyonlarından sürüntü, pü, idrar, kan, BOS, balgam gibi klinik örnekler alınmalıdır. Gram boyalı preparatlarda, Gram negatif basiller görülür. Alınan örneklerin kültür ekimleri kanlı agara ve MacConkey agara yapılmalıdır. Kanlı agarda beta hemolitik koloniler, MacConkey agarda ise laktoz negatif koloniler görülür. Ekşi meyve kokusu duyulması ve üreme ortamını boyayan mavi yeşil pigmentin olması *Pseudomonas*'ı düşündüren tipik özelliklerdir (Erdem, 1999).

MacConkey agarda üreme: Non fermantatif gram negatif bakteriler Mac conkey agarda laktoz negatif koloniler oluşturarak ürerler. *P. aeruginosa* genellikle R koloniler oluşturmaktadır (Bilgehan, 2009).

Hareket: Temiz bir lam üzerine bir damla serum fizyolojik konulur ve bakteri burada süspanse edilir. Üzerine lamel kapatılıp mikroskop altında incelenir ve bakterilerin hareketleri görülür. Karanlık alanda yapılan değerlendirmeler daha iyi sonuçlar vermektedir. Ayrıca asılı damla preparatı yöntemi ile hareket incelenebilir. Bunun için ortasında bir çukur bulunan lam kullanılır. Sıvı örnekten öze ile alınan örnek temiz bir lamel üzerine bırakılır. Lamel ters çevrilip örnek çukurlu lamın ortasına

gelecek şekilde yerleştirilir. Bu şekilde örnek lam ile lamel arasında asılı olarak kalır. Mikroskop altında bakteri hareketleri incelenir (Bilgehan, 2009).

Oksidaz deneyi: Bakterilerdeki sitokrom oksidaz varlığını tespit etmek için kullanılmaktadır. Besiyeri yüzeyinden öze veya tahta çubukla alınan bakteri kolonisi % 1'lik tetra-metil-parafenilen diamin dihidroklorid eriyiği ile nemlendirilmiş filtre kağıtları üzerine küçük bir parça olarak yerleştirilir ve 10 saniye içinde bakterilerin bulunduğu alanın koyu mavi ya da mor renk alması pozitif sonuç kabul edilir.

Oksidasyon – fermantasyon (O-F) deneyleri: Deney yapılırken incelenen bakteri iki tüpe ekilir. Tüplerden birisinin üzerine mineral yağ konularak hava ile ilişkisi kesilir (anaerobik koşullarda fermantatif etki), diğerine bir şey konmaz (aerobik koşullarda oksidatif etki). Ekimler 35⁰C'de tutulmakta iken 7 gün süre ile her gün kontrol edilir. Şekerleri fermentasyon yolu ile parçalayan bakteriler her iki tüpe asit oluşturarak fenol kırmızısı ayırıcını sarıya çevirirler. Yalnız oksidasyon ile şekeri parçalayanlarda aerobik tüpte sarı renk oluşur, anaerobik tüpte değişiklik olmaz. Şekerlere hiç etki etmeyenler (asacharolytic) her iki tüpte de değişiklik oluşturmazlar. *P. aeruginosa* O-F besiyerinde laktozu ve sükrozu parçalayarak asit oluşturma özellikleri önem taşır (Bilgehan, 2009).

2.1.7. Klinik

P. aeruginosa şiddeti farklı birçok enfeksiyona neden olmaktadır. Bu enfeksiyonların son yıllarda hastane ortamında arttığı ve yeni dirençli suşların ortaya çıktığı gözlenmektedir (Falagas ve Kopterides, 2006).

Akciğer enfeksiyonları

P. aeruginosa'nın neden olduğu bronşit ve bronkopnömoninin çeşitli sebeplerle hastalara uygulanan entübasyon, endoskopi ve takılan solunum aygıtlarının neden olduğu düşünülmektedir. Sistemik konak savunma sistemlerinde bozukluk olan kişilerde bakteriyemik pnömoniye neden olur. Kistik fibrozisli hastalarda mukoid suşların 1 yaşın altında % 21 ve 26 yaşın üzerinde de % 80'e kadar yaşla beraber artan alt solunum yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Govan ve Deretic, 1996). Kistik fibrozisli hastaların solunum yolları hemen her zaman *P. aeruginosa* ile kolonizedir ve zaman zaman gözlenen akut alevlenmeler mortalite ve morbidite oranlarında artışa

neden olmaktadır. Kistik fibrozisli hastaların % 80'ninin erken ölümünden sorumlu tutulmaktadır (Lau ve ark., 2004).

Endokardit

P. aeruginosa ilaç bağımlılarında doğal ve protez kalp kapağına yerleşerek enfektif endokardite neden olur. ABD'de bildirilen *P. aeruginosa* endokarditli hastaların % 90'dan fazlası ilaç bağımlısıdır (Willke Topçu ve ark., 2008).

Bakteriyemi

P. aeruginosa'ya bağlı bakteriyemilerde ölüm oranı % 70'e kadar çıkabilmektedir. Gram-negatif bakteriyemiler içerisinde dördüncü sıradadır. Bu mikroorganizma genellikle immün yetmezlikli, nötropenik, geniş yanıklı ve diyabetli hastalarda daha sık bakteriyemiye sebep olur. Ektima gagenozum denilen deri lezyonları pseudomonas bakteriyemisinde önemlidir. Bu lezyonlar veziküler şekilde başlar ve daha sonra hemoraji, nekroz ve ülserasyon gelişimi gösterir. Sıklıkla perinede, kalçada ve ekstremitelerde görülür (Gransden ve ark., 1995). Yapılan bir çalışmada, nozokimyasal *P. aeruginosa* bakteriyemilerinde mortalite oranı % 36 olarak belirlenmiştir (Akalin, 2007).

Üriner sistem enfeksiyonları

Çoğu hastane kaynaklıdır. Sebep üriner sistem kataterizasyonu, cerrahi girişimler, üriner sistemde tıkanmaya yol açan hastalıklar ve organ transplantasyonudur. *P. aeruginosa* bakteriyemisinin % 40 gibi yüksek oranda üriner sistem birincil odağı oluşturmaktadır. Mesane mukozasında, üreter ve renal pelviste ülseratif lezyonların görülmesi *P. aeruginosa* enfeksiyonu için ayıt edicidir. Ayrıca böbreğin orta büyüklükte damarlarının tutulması ve çok sayıda renal infarkt alanlarının olması *P. aeruginosa* enfeksiyonunu gösterir (Willke Topçu ve ark., 2008).

Göz enfeksiyonları

P. aeruginosa bakteriyel keratitin en sık etkenlerindedir. Endoftalmit, ophthalmia neonotum, blefarokonjunktivit, skleral apse ve orbital selülit neden olduğu hastalıklardandır. *P. aeruginosa* keratiti; ağır yanıklı, kontak lens kullanan, komada yatanlarda, önceden göz radyasyonu almış, YBÜ'de yatan ve AIDS'li hastalarda görülme sıklığı yüksektir (Willke Topçu ve ark., 2008). *P. aeruginosa* enfeksiyonları

kontakt lens sıvılarının ve bazen kozmetik ürünlerinin kullanımıyla sağlam gözde bile bu tür enfeksiyonların oluştuğu görülmüştür. Yeni doğanlarda damlacık yoluyla göz enfeksiyonlarına neden olur (Bilgehan, 2000).

Kulak enfeksiyonları

Sağlıklı kişilerde nadiren kulak enfeksiyonlarına neden olan *P. aeruginosa* kulakta yaralanma, maserasyon, enflamasyon ve nem varsa eksternal kanala rahatlıkla yerleşir. Dış kulak yolu enfeksiyonlarında etkin bir bakteridir. Sıklıkla yüzücülerde görülür ve bu tabloya yüzücü kulağı denir. *P. aeruginosa* kulakta otitis eksterna ve kronik süpüratif otitis media gibi hastalıklara yol açabilir. Yaşlı diabetik hastalarda ve kısmen uzun süreli küçük damar hastalığı olanlarda hayatı tehdit edici boyuta ulaşabilen malign eksternal otit görülebilir (Willke Topçu ve ark., 2008).

Merkezi sinir sistemi enfeksiyonları

P. aeruginosa'nın neden olduğu menenjit ve beyin apsesi; kafa travması sonucunda, kulak ve sinüsteki enfeksiyonun yayılması ile, üriner sistem ve solunum sistemi gibi uzak enfeksiyon merkezlerinde gelişen bakteriyemi yoluyla gelişir. Kanserli hastalarda ikinci sıklıkta menenjit ve apseye neden olur (Vahaboğlu ve Akhan, 2008). *P. aeruginosa* özellikle AIDS'li hastaların ileri evrelerinde enfeksiyon nedenidir. Bu enfeksiyonlar bakteriyemik ve bakteriyemik olmayan fırsatçı *P. aeruginosa* enfeksiyonlarıdır. Her iki enfeksiyonda AIDS'li hastalarının yaşamını tehdit ederek ölümcül olabilir. Uzun süre tedavi edilseler dahi tekrarlama oranları yüksektir ve çoğu enfeksiyon kronikleşir (Pollack, 2002).

Kemik ve eklem enfeksiyonları

Enfeksiyon kan yoluyla veya komşuluk yoluyla bulaşır. Kan yoluyla bulaşan enfeksiyonlar intravenöz ilaç bağımlılarında sıklıkla görülür. Sitemnoartiküler pyoartroz, vertebra osteomyeliti, simfis pupis enfeksiyonu, ayağın osteokondriti ve kronik komşuluk yolu osteomyeliti gibi enfeksiyonlara neden olur (Willke Topçu ve ark., 2008).

Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları

P. aeruginosa, abse, yanık yaraları, ektima gangrenosum, püstüller veya makülopapüler lezyonlar, endokardit gibi enfeksiyonların başlıca sebebidir

(Giamarellou, 2002). Deri enfeksiyonları arasında neden olduğu önemli enfeksiyon yanık yaralarıdır. Ciddi yanığı olan hastalarda kolonize olurlar, ancak kolonizasyon invaziv enfeksiyonun ön aşamasıdır. Yanık yüzeylerin nemli oluşu, nötrofillerin yaraya girişinin yeterli olmaması, hastaları bu enfeksiyona dirençsiz hale getirir. Ayrıca yanık yüzeyine uygulanan hidroterapide yanık alanların ve diğer bölgelerin kolonizasyonuna yol açar (Maejima ve ark., 1984; Murray ve ark., 2008). Yanık hastalarında kemik iliği baskılanır, nötrofillerin *Pseudomonas*'ları öldürmesi bozulur. *P. aeruginosa*, yara yerinin iyileşmesini engelleyen, fibrinin parçalanmasına neden olan eksojen plasminojen aktivatör salgılar (Maejima ve ark., 1984).

Gastrointestinal enfeksiyonlar

P. aeruginosa orofarinksten rektuma kadar bütün gastrointestinal sistemde enfeksiyon yapabilmesine karşın kliniğinin çok belirgin olmaması, diğer etkenlerin yol açtığı enfeksiyonlardan ayırt etmenin zorluğu nedeni ile gerçek sıklığının saptanması mümkün olamamaktadır. Yenidoğanlarda, hematolojik malignitesi olanlarda, kemoterapi gören nütropenik hastalarda enfeksiyonlara neden olurlar (Vahaboğlu ve Akhan, 2008).

2.1.8. *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisi

P. aeruginosa enfeksiyonlarının antimikrobiyal ajanlarla tedavisi güçlükle göstermektedir. Çünkü; bakteri birçok antibiyotiğe, dış membran geçirgenliğinin azlığı, antimikrobiyal ajanları hücre dışına çıkaran aktif efluks pompa sistemlerine sahip olması ve kromozomal AmpC β -laktamaz enzimine sahip olması nedeniyle dirençlidir. Ayrıca sıklıkla immun sistemi baskılanmış konakta enfeksiyon meydana getirdiği için de konak antibiyotik aktivitesine yeterli yanıt oluşturamamaktadır (Lambert, 2002; Strateva ve Yordanov, 2009).

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisinde karboksipenisilinler (karbenisilin, tikarsilin), üreidopenisilinler (azlosilin, piperasilin), bazı 3. kuşak sefalosporinler (seftazidim, sefsulodin, sefaperozon), tüm 4. kuşak sefalosporinler, aztreonam, karbapenemler (imipenem, meropenem), kinolonlar (siprofloksasin, levofloksasin), aminoglikozidler (gentamisin, tobramisin, amikasin), tetrasiklinler (tetrasiklin, doksisisiklin, minosiklin) kullanılmaktadır (Erdem, 1999; Bilgehan, 2000).

Antibiyotik tedavisi yanında enfeksiyon odağına göre infekte kalp kapaklarının ve vejetasyonların çıkarılması, absenin drenajı, yaranın debridmanı ve cerrahi işlemlerin de uygulanması gerekmektedir (Pollack, 2005).

2.1.9. Antimikrobiyal Direnç

Mikroorganizmaların çeşitliliği ve antibiyotiklerin özgül aktivitesi direncin bakteriler arasında yaygınlaşmasına yol açmaktadır (Murray ve ark., 2009). Antibiyotiklerin yaygın kullanıma paralel olarak bakterilerin de yeni direnç mekanizmaları geliştirdiği ve beta laktam antibiyotiklere direnç oranlarının giderek arttığı gözlenmektedir. *Pseudomonas*'larda kromozomal ve plazmid kaynaklı beta laktamazların üretimi, antibiyotik hedeflerinde değişiklik yapan penisilin bağlayan proteinlerdeki değişim, porin proteinlerindeki değişiklik sonucu dış membran geçirgenliğinin azalması, aktif dışa pompalama sistemi ile antibiyotiğin dışarı atılmasına bağlı direnç mekanizmaları mevcuttur. *P. aeruginosa*'nın çeşitli antibiyotiklere karşı direnç geliştirme mekanizmaları tablo 4'te özetlenmiştir (Gülay, 2003).

Tablo 4. *Pseudomonas aeruginosa*'da çeşitli antibiyotiklere direnç mekanizmaları (Gülay, 2003)

Etkilenen Antibiyotik	Mekanizma
Genişlemiş spektrumlu sefalosporinler ve monobaktamlar	İndüklenebilir Amp C tipi kromozomal beta-laktamazların, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların varlığı
Karbapenemler	OprD kaybı ve aktif pompa sistemlerinin, karbapenemazların, plazmid kökenli metalloenzimlerin varlığı
Aminoglikozidler	Aminoglikozid yapısını değiştiren enzimlerin varlığı ve aktif pompa sistemlerinin işlemesi
Kinolonlar	DNA giraz A mutasyonlarının oluşumu ve aktif pompa sistemlerinin işlemesi
Çoğul direnç	Aktif pompa sistemlerinin işlemesei ve hücre duvar geçirgenliğinin düşük olması

OprD: Outer membrane protein D.

• İntrensek direnç

Doğal direnç bakterinin temel özelliklerinden kaynaklanır ve ilaç kullanımı ile ilişkisi yoktur. Doğal direnç bakterinin ilacın hedeflediği yapıların olmamasından ve yapısal özelliklerinden kaynaklanır (Murray ve ark., 2009). *P. aeruginosa*'da bulunan doğal aktif pompa sistemleri ve dış membran geçirgenliğinin az olması ampisillin, amikasin, birinci kuşak sefolosporinler, nalidik asit, klavunat ve trimetoprim gibi antibiyotiklere doğal direnç sağlar. Salgıladıkları az miktarda AmpC gibi β -laktamaz'lar da penisilin G direncine neden olur (Strateva ve Yordanov, 2009).

Enzimatik inaktivasyon

Bakterilerin birçoğu antibiyotikleri parçalayan veya yapılarını bozan enzimler sentezler. Enzimler antibiyotik direncinin önemli nedenlerindedir. *P. aeruginosa*'da plazmid aracılı oluşan β -laktam grubu antibiyotiklerin hidrolizi ve aminoglikozidlerin asetilasyon, fosforilasyon ve adenilasyon işlemleriyle yapılarını değiştirmesi örnek verilebilir (Ustaçelebi ve ark., 1999).

Beta laktamazlar, beta laktam halkasındaki siklik amid bağına parçalama özellikleriyle beta laktam grubu antibiyotiklerin etkinliğini ortadan kaldıran enzimlerdir. Kromozomal ya da plazmid kaynaklıdır (Livermore, 1995). Beta laktamazlar moleküler yapılarında amino asit dizilerinin benzerliğine bakılarak yapılan Ambler sınıflaması veya 1995 yılında önerilen, günümüzde yaygın olarak kullanılan, özellikle substrat profilleri ve inhibitörlere duyarlılık gibi işlevsel özelliklerinin değerlendirilmesine dayanan Bush-Jacoby Medeiros sınıflamasına göre sınıflandırılabilirler (Tablo 5). Moleküler sınıf A, C ve D' deki enzimlerin aktif bölgelerinde serin amino asiti bulunmaktadır. Moleküler sınıf B'de yer alan enzimler ise aktif bölgelerinde en az bir çinko iyonu bulunan metalloenzimlerdir (Rasmussen ve Bush, 1997).

Tablo 5. Beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri (Bush ve ark., 1995)

Beta laktamaz grubu	Alt grup	Molekül sınıfı	EDTA ile İnhibisyon	Özellik
1		C	-	Kromozomal ve plazmid kökenli AmpC tipi enzimler
2	2a	A	-	Penisilinazlar
	2b	A	-	Çoğunlukla gram-negatif bakterilerdeki geniş spektrumlu beta-laktamazlar
	2be	A	-	Genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar
	2br	A	-	İnhibitörlere dirençli beta laktamazlar
	2c	A	-	Karbenisilini hidroliz eden enzimler
	2d	D	-	Oksasilini hidroliz eden enzimler
	2e	A	-	Klavulanik asit ile inhibe olan sefalosporinazlar.
	2f	A	-	Karbapenemleri hidroliz eden, aktif bölgede serin içeren ve klavulanik asit ile inhibe olan enzimler
3		B	+	Metallo beta laktamazlar. Klavulanik asit ile inhibe olmazlar.
4		?		Diğer gruplara girmeyen dizileri belirlenmemiş.

EDTA: Etilendiamintetraasetik asit

Grup 2f'de bulunan en önemli karbapenemazlar GES-2, *Klebsiella pneumoniae* karbapenemazı KPC-1, KPC-2, KPC-3 gibi enzimlerdir. GES-2 enzimi *P.*

aeruginosa'da bulunur ve plazmidde taşınır. GSBL özelliği olan GES-1'in mutantıdır ve bu mutasyonun imipenemaz aktivitesi kazandırması ilginçtir (Poirel ve ark., 2001).

Efluks pompa sistemleri

Efluks pompaları *P. aeruginosa*'da antibiyotiklere direnç gelişmesinde önemli mekanizmalardandır. Efluks pompa sistemleri üç protein kısmından oluşmaktadır; sitoplazmik zar da yer alan enerji bağımlı bir pompa, dış membran porini ve her iki protein arasında ilişkiyi sağlayan bağlantılı bir proteindir (Lambert, 2002). *P. aeruginosa*'da farklı antibiyotik efluks pompaları tanımlanmıştır. Bunlar MexAB-OprM, MexXY-OprM, MexCD-OprJ, MexJK-OprM ve MexEF-OprN efluks pompalarıdır (Pool, 1996; Chuanchuen ve ark., 2002). MexAB-OprM tüm *P. aeruginosa* suşlarında yapısal olarak eksprese edilmektedir (Blondel-Hill ve ark., 2007). nalB (*mexR*), nfxB veya nfxC (*mexT*)'deki regülatuar mutasyonlar efluks pompalarında aşırı ekspresyona neden olmaktadır (Hancock ve Speert, 2000). MexAB-OprM betalaktam antibiyotikler, kinolonlar ve bazı dezenfektanların dışarı atılmasında, MexXY-OprM aminoglikozitlerin, MexEF-OprN kinolonların ve karbapenemlerin, MexJK-OprM tetrasiklin ve eritromisin, MexCD-OprJ 4. kuşak sefalosporinlerin dışarı pompalanmasından sorumludur (Chuanchuen ve ark., 2002; Lambert, 2002). Siprofloksasinle önceden tedavi görmüş kistik fibroz hastalarının % 80'inde efluks pompalarını aşırı üreten mutantlar saptanmıştır (Jalal ve ark., 2000).

Dış membran protein defektleri

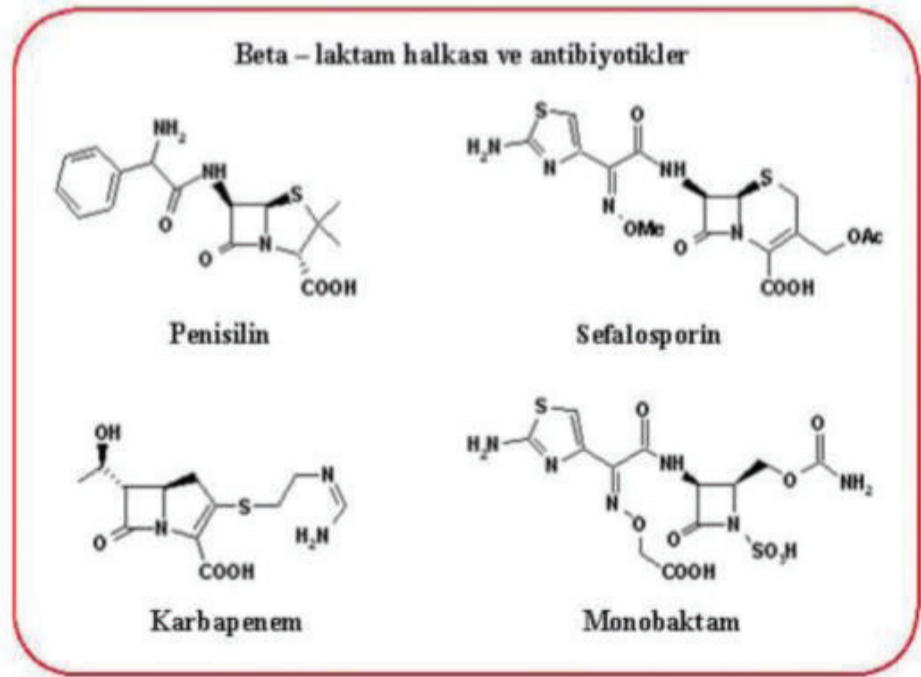
P. aeruginosa'da görülen ilaç direncinin diğer bir nedeni dış membran geçirgenliğinin azalmasıdır. Antibiyotikler dış membrandan OprF, OprC, OprD gibi kanallardan hücre içerisine girmektedir. Özellikle beta-laktam antibiyotikler dış membrandan OprF, OprC kanalları aracılığı ile geçmektedir. İmipenem ayrıca D2 proteini adı verilen özel bir porini kullanarak geçmektedir. Bu yüzden, IPM dirençli *P. aeruginosa* klinik izolatlarının çoğunda OprD porin kaybı vardır (El Amin ve ark., 2005). *P. aeruginosa* tedavisinde ilk haftanın sonunda OprD kaybı ile yaklaşık olarak % 50 oranında karbapenem direnci saptandığı gösterilmiştir. OprD mutantların IPM minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) aralığı 8-32 µg/ml, MEM için 2-4 µg/ml olduğu saptanmıştır (Akkurt ve ark., 2002; Strateva ve Yordanov, 2009).

Hedefte oluşan değişiklik

Mutasyonlar, doğal transformasyon, transpozonlar, bakteriofajlar ve plazmidler bakterilerin antibiyotiklere direnç geliştirmesine ve direncin hızlı bir şekilde aktarılmasına neden olurlar (Ustaçelebi ve ark., 1999).

2.2. Beta laktam antibiyotikler

Beta laktam antibiyotikler, hücre duvar sentezini engelleyen ve yapılarında bir beta laktam halkası bulunan, günümüzde gerek hastane içinde, gerekse hastane dışında en sık kullanılan antibiyotiklerdir. Beta laktam antibiyotikler hücre duvarı sentezinin dördüncü aşamasında yer alan transpeptidaz ve karboksipeptidazları inhibe ederek hücre duvar sentezini durdururlar. Beta laktamlar, kimyasal yapılarındaki ortak bir beta laktam halkası ve bu halkaya bağlanan başka halkalar ve yan zincirlerle belirlenir (Ayaz, 2008; Gülay, 2008) (Şekil 2).



Şekil 2. Beta laktam antibiyotiklerin kimyasal yapısı (Ayaz, 2008; Gülay, 2008)

Beta-laktamazların sınıflandırılması 1970 yılında Jack ve Richmond tarafından ilk kez gündeme getirilmiş olup, 1973'te Richmond ve Sykes tarafından ilk sınıflama yapılmıştır. Bush tarafından 1989 yılında, sınıflandırmadaki eksiklikler giderilmiş ve 1995'te güncellenmiştir. Revize edilmiş Bush sınıflaması substrat özgülüğünü ve beta-

laktamaz inhibitörlerine duyarlılığı esas alan fenotipik bir sınıflandırmadır. Bu fenotipik sınıflandırmanın en büyük dezavantajı substrat özgülüğünün ve beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlılığın nokta mutasyonlar nedeniyle büyük oranda değişebilmesidir (Bush, 1989; Vedel ve ark., 1992). Ambler tarafından 1980 yılında yapılan beta-laktamaz enzimlerinin moleküler sınıflandırması ise mutasyonlardan etkilenmemektedir. Sekans esaslı bu sınıflandırma A'dan D'ye dört sınıfı içeren kolay anlaşılır bir sınıflandırmadır. Moleküler sınıflandırmada A, C ve D sınıfı enzimlerin aktif bölgelerinde serin bulunurken, B sınıfı enzimler aktiviteleri için çinko iyonlarına gereksinim duyarlar. *P. aeruginosa*' da bu dört sınıf beta-laktamazların çoğu bulunmaktadır (Ambler, 1980; Bush, 1995; Livermore, 1995; Strateva ve Yordanov, 2009) (Tablo 6).

Tablo 6. Beta laktamazların sınıflandırılması (Sacha ve ark., 2008)

Fonksiyonel Sınıflama	Ambler Sınıflaması	Bush Sınıflaması	Örnekler	Substratlar
Serin beta laktamazlar	Sınıf A penisilinaz	2a, 2b, 2c	Geniş spektrumlu beta laktamazlar, TEM-1, TEM-2, SHV-1	Benzilpenisilin (penisilin), Aminopenisilinler (amoksisilin, ampisilin), Karboksipenisilinler (karboksipenisilini tikarsilin), Dar spektrumlu sefaloprinler (sefazolin, sefuroksim vb.)
		2be	Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL), TEM ve SHV Diğerleri BES-1, GES/IBC, PER-1, PER-2, SFO-1, TLA-1, VEB-1/2	Metisilin, oksasilin ve kloksasilin ile birlikte geniş spektrumlu beta laktamazların substratların TEM ve SHV ile aynı

Tablo 6. Devamı

		2br	TEM (TEM-30, TEM-31)	TEM ve SHV ile aynı
		2e	CTX	GSBL'ların substratları ve bazı enzimler için sefepim
		2f	Karbapenemazlar: KPC-1, KPC-2, KPC-3, GES-1, GES-2	Karbapenemler, sefamisinler ve GSBL'lerin substratları
Metallo beta laktamazlar	Sınıf B Metallo Beta Laktamazlar	3a, 3b, 3c	Karbapenemazlar: IMP, VIM, SPM-1, SPM-2, GIM-1, L1, CcA	Sınıf A karbapenemazlarla aynı
Serin beta laktamazlar	Sınıf C- sefalosporinazlar	1	AmpC tipi: AAC-1, ACT-1, CFE-1, CMY, DHA-1, DHA-2, FOX, LAT, MIR-1, MOX-1, MOX-2	Sınıf A karbapenemazlarla aynı
Serin beta Laktamazlar	Sınıf D- Kloksasilin hidrolize eden enzimler (OXA)	2d	OXA'ların çoğu	Kloksasilin, metsilin ve oksasilin ile birlikte geniş spektrumlu penisilinler
			Diğer: OXA-23, OXA-27, OXA-40, OXA-48	IMP, VIM, SPM-1, SPM-2 ve GIM-1 ile aynı
Bilinmeyen		4	AVS-1	Herhangi bir fonksiyonel ya da moleküler sınıfa dahil edilememiştir.

Beta laktam antibiyotikler başlıca 5 gruba ayrılır. Bunlar; penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler, beta laktam inhibitörleridir (klavulanat, sulbaktam, tazobaktam) (Essack, 2001).

2.2.1. Karbapenemler

Karbapenemler ilk olarak 1976 yılında *Streptomyces cattleya* tarafından üretilen ve “tienamisin adı verilen bileşiğin üzerinde amino ve hidroksil gruplarında değişiklikler yapılarak elde edilmiştir. Beta-laktamların en geniş spektrumlusudur. Sefalosporinlerdeki bir çift bağ içeren 5 üyeli halka yapısında bir metilenin yerine bir sülfürün geçmesiyle diğer betalaktam ajanlardan ayrılır. Karbapenemler beta-laktamların en geniş spektrumlusudur. Mikobakteriler, hücre duvarından yoksun organizmalar, nadir nonfermentatifler ve *Aeromonas* dışında gram pozitif, gram negatif ve anaerob mikroorganizmalarla oluşan hastane enfeksiyonları ve toplumdan kazanılmış enfeksiyonlardaki bakteriyel patojenlere etkilidir (Livermore ve Woodford, 2000). İlk bulunan ajan imipenemdir (IMP). Karbapenem grubunun ikinci üyesi olan meropenem (MEM) 1996 yılından sonra kullanıma girmiştir. Meropenem, karbapenem halkasına 1- β -metil grubu eklenerek elde edilmiştir (Bonfiglio ve ark., 2002). MEM’de IMP’den farklı olarak dehidropeptidaz 1 (DHP-1) enzimine dirençli olmasını sağlayan C1 atomuna bağlanmış olan metil grubu vardır (Leblebicioğlu ve ark., 2008).

Karbapenemlerde başlıca üç temel kuşağın varlığından söz edilebilir (Tablo 7).

Tablo 7. Karbapenemlerin aktivitelerine göre sınıflandırılması (Leblebicioğlu ve ark., 2008; Bassetti ve ark., 2009).

Grup 1	Grup 2	Grup 3
Ertapenem	İmipenem	CS-023
Pamipenem	Meropenem	
Non fermentatif etkinlik sınırlı	Biapenem	
	Doripenem	

Grup 1 karbapenemler: Etki spektrumları daha dar ve nonfermantatif basillere etkileri sınırlı, toplum kökenli enfeksiyonlarda kullanılabilenler karbapenemlerdir (ertapenem gibi).

Grup 2 karbapenemler: Etki spektrumları daha geniş ve nonfermantatif basillere de etkili olan, daha çok nazokomiyal enfeksiyonlarda kullanılabilenler karbapenemlerdir (IMP ve MEM gibi).

Grup 3 karbapenemler: Üçüncü grup karbapenem olan CS-023 ise ikinci grubun etkinliğine ek olarak metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'a karşı da aktivite göstermektedir. Günümüzde bu kuşakta lisanslı bir ürün yoktur (Leblebicioğlu ve ark., 2008; Bassetti ve ark., 2009).

Karbapenemlere geniş spektrumlu denmesinin en önemli nedenlerinden biri gram pozitiflere de etkili olmasıdır. MRSA hariç tüm stafilokoklar üzerine etkilidirler. Keza *Enterococcus faecium* kökenleri genellikle karbapenemlere dirençli iken, *E. faecium* dışındaki diğer enterokoklar orta duyarlı ya da duyarlıdır. Karbapenemlerin en büyük avantajlarından biri de anaeroplara karşı etkinlikleridir. Bu etkinlik birçok anaerop türü için metronidazol ve klindamisin gibi klasik anaerob etkili antibiyotiklerden daha fazladır. Bu özellikleri mikst bakteriyel enfeksiyonlarda karbapenemlere büyük avantaj sağlar (Leblebicioğlu ve ark., 2008).

Karbapenemazlar, en geniş spektrumlu antibakteriyel etkinliğe sahip beta-laktam sınıfı olan karbapenemlerden en az birini belirgin olarak hidrolize eden beta-laktamazlar olarak tanımlanabilir (Öcal, 2012). Kromozomal kaynaklı veya kazanılmış enzimler olan karbapenemazlar; Ambler moleküler sınıflandırmasında A, B ve D sınıflarında yer alırlar. Moleküler sınıf A karbapenemaz (KPC-1, KPC-2, KPC-3 ve GES-1, GES-2) enzimleri aktif bölgelerinde serin içerirler ve aktiviteleri klavulanik asit ile baskılanır (Tablo 8). Moleküler sınıf B karbapenemazların (IMP ailesi, VIM ailesi, SPM-1, SPM-2, GIM-1 ve L-1, CcrA) aktif bölgesi iki değerlikli çinko iyonu içerir ve metallo-beta-laktamaz (MBL) olarak adlandırılır. MBL'lar klasik beta-laktamaz inhibitörlerine dirençli olup iki değerlikli metal şelatörlere duyarlıdırlar. Moleküler sınıf D karbapenemazlar (OXA-23, OXA-27, OXA-40, OXA-48) aktif bölgelerinde sınıf A'da olduğu gibi serin içerirler, ancak betalaktamaz inhibitörlerine duyarlılıkları daha düşüktür. Karbapenemlerin tedavide yoğun olarak kullanılmasına paralel olarak son yıllarda karbapenemaz enzimi bildirimleri artmaktadır (Bush, 1995; Nordmann ve Guibert, 1998; Bush, 1998; Poirel ve Nordmann, 2002).

A sınıfı karbapenemazlar: Serin karbapenemazlardır, klavulanik asitle inhibe olurlar ve enderdirler. Bu gruptaki enzimler IMI, NMC-A, SME, KPC ve GES'dir, *P. aeruginosa*'da nadir olmak üzere, tüm *Enterobacter*'lerde görülürler. Bunlar, imipenem, meropenem, penisilinler, geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama direnç

gelişmesine neden olan ve tazobaktam başta olmak üzere beta laktamaz inhibitörlerine duyarlı olan enzimlerdir (Şenol, 2008; Şenol, 2009; Nordmann ve ark., 2011; Budak ve ark., 2012).

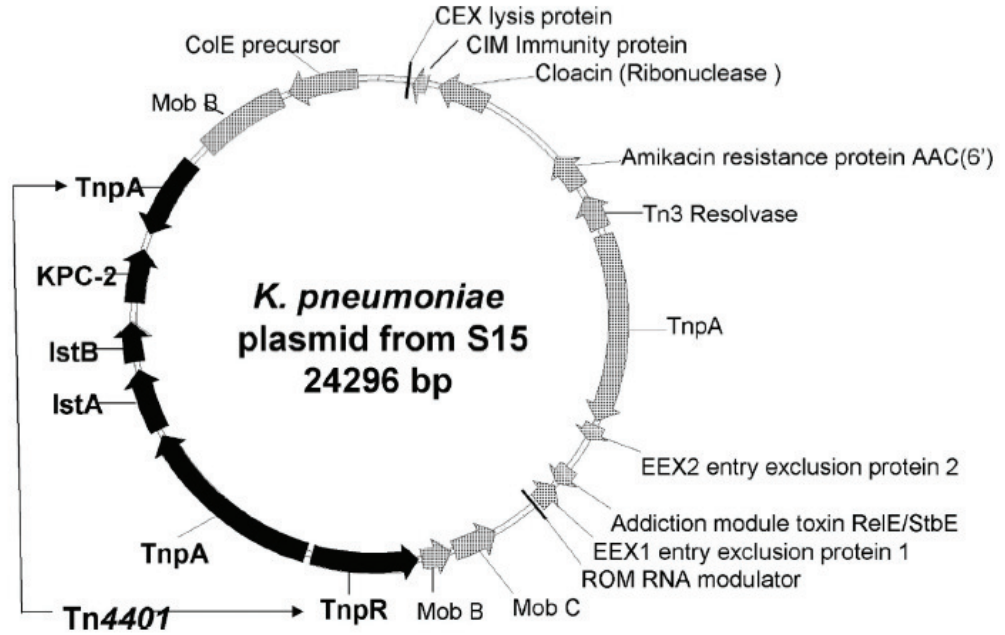
Tablo 8. Beta laktamazların substrat profili (Zhao ve Hu, 2010)

β -Laktamaz	Moleküler Sınıf	Tip	Substrat				İnhibisyon	
			Penisilinler	Sefalosporinler	Aztreonam	Karbapenemler	Klavulanik asit	EDTA
ESBL	A	PER-1,-2	+	+	+	-	+	-
		GES-1,-8, -9	+	+	+	-	+	-
	D	OXA-11, 14, -15, -16, -17, -19, -28, -32, -161	+	+	+	-	-	-
		OXA-18, -45	+	+	+	-	+	-
Karbapenemaz	A	GES-2, -5	+	+	+	+	+	-
		KPC-2, -5	+	+	+	+	+	-
	B	IMP-1, -2, -4, -6, -9, -10, -11, -13, -14, -15, -16, -18, -19, -20, -21, -22, -25	+	+	-	+	-	+
		VIM-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -10, -11, -13, -14, -15, -16, -17, -18, -20	+	+	-	+	-	+

2.2.2. KPC

İlk KPC enzimi 1996 yılında Kuzey Karolina'da *K. pneumoniae* izolatında saptanmıştır. KPC-1'in saptanmasından sonra bir aminoasit değişimi ile KPC-2 tespit edilmiştir. KPC-2 üreten *K. pneumoniae* 2004 yılında New York'ta salgınlara neden olmuştur. Sonrasında KPC enzimleri *K. pneumoniae*'dan başka *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp. ve *P. aeruginosa* gibi bakterilerde de saptanmıştır. Plazmidlerle aktarılan KPC karbapenemaz enzimleri bütün β -laktam enzimlerini hidrolize ederler (Queenan ve Bush, 2007). KPC geninin şimdiye kadar 10 türevi (KPC-2, 11) bilinmektedir (Tablo 10), plazmitte yerleşik Tn4401 transpozonu ile ilişkilidir ve bu durum bu genin yayılımından sorumlu olabilir (Naas ve ark., 2008; Robledo ve ark., 2011) (Tablo 9).

Tablo 9. *K. pneumoniae* S15'den bla_{KPC-2} genini taşıyan tam 24.3-kb uzunluğunda plazmidin kısımlarının açılımı (Gootz ve ark., 2009)



Tablo 10. KPC karbapenemazın üreten bakterilerin coğrafik dağılımı ve izolasyon yılları (Walther-Rasmussen ve Høiby, 2007)

Enzim	Konak	Ülke	Yıl
KPC-1	<i>K. pneumoniae</i>	USA	?
KPC-2	<i>C. freundii</i>	Colombia	2006
KPC-2 ^c	<i>C. freundii</i>	USA	2000-05
KPC-2	<i>E. aerogenes</i>	USA	2003

Tablo 10. Devamı

KPC-2 ^d	<i>E. cloacae</i>	USA	2001
KPC-2	<i>E. hormaechei</i>	USA	
KPC-2	<i>Enterobacter sp.</i>	USA	2001
KPC-2 ^e	<i>E. coli</i>	Israel	2005
KPC-2 ^f	<i>E. coli</i>	USA	2004
KPC-2 ^g	<i>K. oxytoca</i>	USA	1998
KPC-2	<i>K. pneumoniae</i>	China	2004
KPC-2 ^h	<i>K. pneumoniae</i>	Colombia	2005
KPC-2 ⁱ	<i>K. pneumoniae</i>	France	2005
KPC-2 ^j	<i>K. pneumoniae</i>	USA	1998
KPC-2	<i>P. aeruginosa</i>	Colombia	2006
KPC-2	<i>S. enterica</i> ^k	USA	1998
KPC-2	<i>S. marcescens</i>	China	2006
KPC-3 ^l	<i>C. freundii</i>	USA	2001
KPC-3	<i>E. coli</i>	USA	
KPC-3 ^m	<i>E. cloacae</i>	USA	2000
KPC-3	<i>E. gregoviae</i>	USA	2002
KPC-3 ⁿ	<i>K. pneumoniae</i>	USA	2000-01
KPC-3	<i>S. marcescens</i>	USA	2000
KPC-4	<i>Enterobacter sp.</i>	Scotland	?

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında Nisan 2015 ve Mayıs 2016 tarihleri arasında gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen karbapenem dirençli 200 *P. aeruginosa* izolatu çalışmaya dahil edilmiştir.

3.1. Bakterilerin tanımlanması

Laboratuvara gelen klinik örnekler rutin olarak % 5 koyun kanlı agar ve Eozin Metilen Blue (EMB) agara ekildi, 35°C'de, 20-22 saatlik inkübasyondan sonra üreyen koloniler değerlendirildi. Üreyen kolonilerden *P. aeruginosa* tanımlamasında; EMB agarda üreyen laktoz negatif koloniler hareket, oksidaz aktivitesi, koloni morfolojisi, pigment oluşturma, kanlı agarda hemoliz oluşturma özellikleri kullanıldı. Tür düzeyinde tanımlanmanın doğrulanması için suşlar bir kez de Vitek-MS otomatize sistemi ile çalışıldı.

3.2. Bakterilerin antimikrobiyal direncinin belirlenmesi

Çalışmaya dahil edilen suşların karbapenem direnci Vitek2 Compact (Biomeriux, Fransa) sisteminde belirlendi.

3.2.1. Vitek2 Compact (Biomeriux, Fransa) Otomatize sistemi

Antibiyotik duyarlılığı AST N326 kartları kullanarak üretici firma önerileri doğrultusunda çalışıldı. İzolatlar % 5 koyun kanlı agarda üredikten sonra 0,5-0,6 McFarland standart bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanarak, kartlar ve süspansiyonlar cihaza yerleştirildi. Süspansiyonların kartlara inoküle edilmesi, okuma, değerlendirme ve raporlama otomatik olarak cihaz tarafından yapıldı. Ayrıca değerlendirme EUCAST kriterlerine göre yapılmıştır.

3.3. Moleküler Yöntemler

3.3.1. *P. aeruginosa* bakterisinden DNA ekstraksiyonu

P. aeruginosa bakterisinden kaynatma yoluyla DNA ekstraksiyonu yapıldı.

1. Mueller- Hinton agar besiyerine pasajlanan bakteriler 35°C'de 20-22 saat inkübe edildi.
2. Üreyen bakterilerden bir öze dolusu alınıp, 500 µl steril distile su içeren mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.
3. Homojenizasyon için vorteks işlemi yapıldı

4. Homojen bir süspansiyon elde edildikten sonra, mikrosantrifüj tüpleri 15 dk süresince 100°C'ye ayarlanmış olan kuru bloğa yerleştirildi.
5. Süre sonunda mikrosantrifüj tüpleri soğutmalı mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 15000x g ve 4°C sıcaklıkta 20 dakika boyunca santrifüj işlemine tabi tutuldu.
6. Santrifüj işleminden sonra üste kalan kısım PZR işleminde kullanılacak template DNA olarak steril DNase ve RNase içermeyen mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.
7. Elde edilen DNA'lar kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

3.3.2. KPC geninin standart PZR yöntemi ile araştırılması

KPC gen bölgesi standart PZR ile test edildi.

Kullanılan Primerler

Çalışmada Doyle ve ark. (2012)'nin tanımladığı primerler kullanıldı. Kullanılan primerler tablo 11'de sunuldu.

Tablo 11. Çalışmada kullanılan KPC geni primer çifti (Doyle ve ark., 2012)

Gen	Primer adı	Primer dizisi
KPC	KPC-F	TGTCACTGTATCGCCGTC
	KPC-R	CTCAGTGCTCTACAGAAAACC

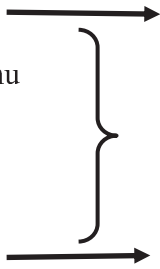
KPC geninin standart PZR yöntemiyle amplifikasyonu

KPC geninin belirlenebilmesi için KPC-F ve KPC-R primerleri kullanılarak amplifikasyon programı uygulandı. PZR işleminde kullanılacak reaksiyon karışımı tablo 12'de, amplifikasyon programı da tablo 13'te belirtildi.

Tablo 12. KPC PZR reaksiyon karışımı

10X PZR tamponu	5 µl
25 mM MgCl ₂	4 µl
dNTP karışımı (10 mM)	1 µl
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	1 µl
KPC-F primeri (10 pmol)	1 µl
KPC-R primeri (10pmol)	1 µl
Kalıp DNA	4 µl
Saf su	33 µl
Toplam	50 µl

Tablo 13. KPC PZR amplifikasyon programı

95°C' de 5 dakika ön denatürasyon		1 Döngü
95°C' de 1 dakika hedef DNA denatürasyonu		35 Döngü
60°C' de 1 dakika primer bağlanması		
72°C' de 1 dakika primer uzaması		
72°C' de 10 dakika son uzama		
	1 Döngü	

DNA elektroforezi:

PZR ürünü DNA'ların incelenmesi ve boyutlarının belirlenmesi için konsantrasyonu % 2 olacak şekilde 1X TBE tamponu ile jel hazırlandı. Mikrodalga fırında eritilen agaroz, yatay elektroforez jel kabına döküldü ve soğumaya bırakıldı. Agaroz jel kuyucuklarına 10 µl amplifikasyon ürünü 2 µl 6X yükleme tamponu ile karıştırılarak uygulandı. Bir saat süresince 120 V elektrik akımı altında moleküler boyutlarına göre DNA bantları ayrıştırıldı. 0.5 µg/ml etidyum bromid içeren distile suda 20 dakika jel boyandı. Elektroforez işlemi takiben örnekler için DNA bantları "GeneRuler 100 bp DNA Ladder Plus" belirteçleri ile karşılaştırılarak görüntüleme cihazında incelendi.

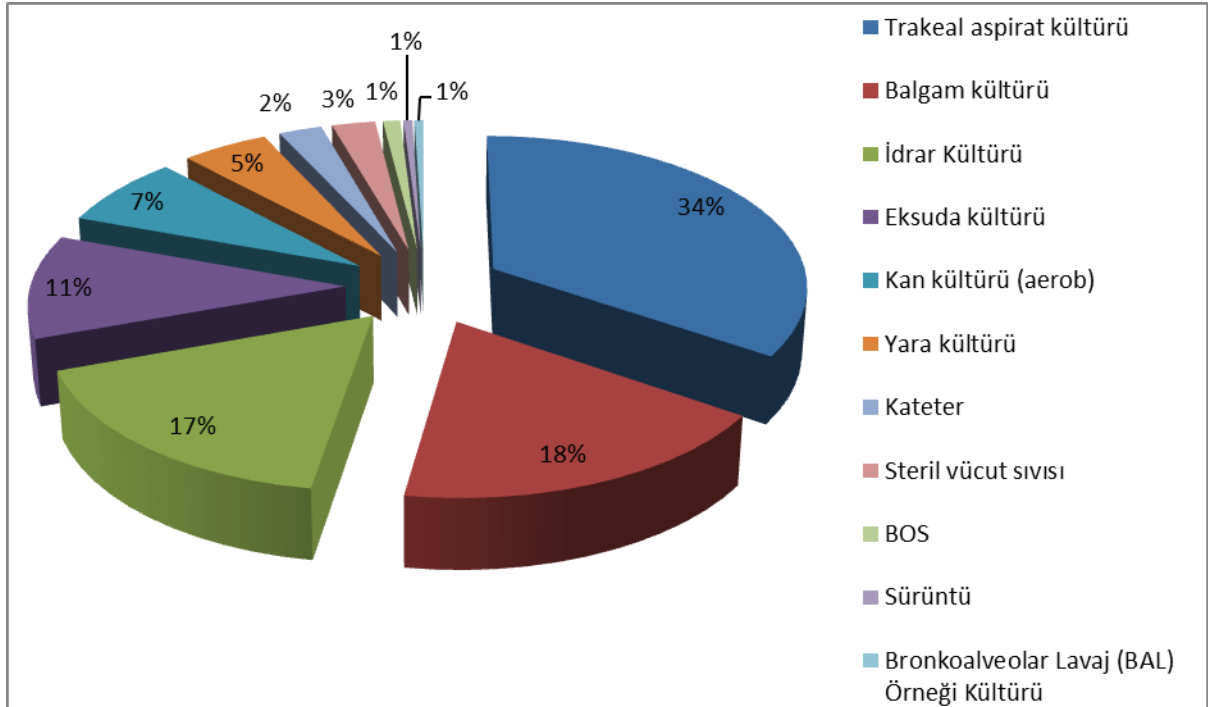
3.4. Karbapenem İnaktivasyon Metodu (KİM)

Bu testin çalışma prensibi; karbapenemaz üretimi test edilecek suşla birlikte inkübasyona bırakılan karbapenem diskinin, bakterinin enzimiyle inaktivasyonunun fenotipik olarak gösterilmesidir (Van der Zwaluw ve ark., 2015). Mikrosantrifüj tüpünde karıştırılan steril distile su ve bakteri süspansiyonuna meropenem diski atılıp iki saat inkübasyona bırakıldı. İki saatin sonunda mikrosantrifüj tüpü içindeki disk alınarak ve karbapenem duyarlı 0.5 McFarland standart bulanıklığında olan *E. coli* ATCC (25922) suşunun yayılmış olduğu Mueller hinton agar (MHA) plağına konuldu. Altı ya da 24 saatlik inkübasyon sonrasında normalde *E. coli* suşunun etrafında inhibisyon zonu oluşması beklenirken, test edilen bakteride karbapenemaz varlığında inaktive olan meropenem, *E. coli* suşunda inhibisyon zonu oluşturamaz, bu durumda karbapenemaz üretimi pozitif olarak değerlendirilir (Kılıç ve ark., 2016).

4. BULGULAR

4.1. *P. aeruginosa* İzolatlarının İzole Edildikleri Örnek Türleri ve Klinik Servisler

Çalışmaya toplam 200 karbapenem dirençli *P. aeruginosa* izolatı dahil edildi. Bu çalışmaya dahil edilen yatan hastalardan ve poliklinik hastalarından gönderilen materyallerden izole ettiğimiz *P. aeruginosa* izolatlarının örnek türü dağılımı şekil 3'te sunulmuştur. *P. aeruginosa* izolatlarının en sık izole edildiği örnek türü % 34.5 ile trakeal aspirat olup bunu % 18 ile balgam ve % 17 ile idrar örnekleri takip etmekte olup; en az izole edildiği örnek türü ise % 0.5 ile sürüntü ve bronkoalveolar lavaj (BAL) örnek türleri olmuştur.



Şekil 3. *P. aeruginosa*'ların izole edildiği örnek türü dağılım grafiği

P. aeruginosa materyallerin en büyük bölümü dahiliye servisinden (% 36); en az ise ortopedi ve travmatoloji, kardiyoloji, çocuk enfeksiyon servislerinden (% 0.5) izole edildi. Gönderilen örneklerin servislere göre dağılımı tablo 14'te sunuldu.

Tablo 14. *P. aeruginosa*'ların izole edildiği materyallerin servislere göre dağılımı tablosu

Klinik	Sayı	Yüzde (%)
Dahiliye	72	36
Nöroloji Servisi	21	10.5
Beyin Cerrahi Servisi	20	10
Genel Cerrahi Servisi	14	7
Çocuk Genel Servisi	11	5.5
Yetişkin Yoğun Bakım Servisi	10	5
Üroloji Servisi	8	4
Kalp Damar Cerrahi Servisi	7	3.5
Çocuk Acil Servisi	6	3
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	5	2.5
Enfeksiyon Hastalıkları Servisi	5	2.5
Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Servisi	5	2.5
Acil ve İlk Yardım Servis	4	2
Göğüs Cerrahi Servisi	4	2
Çocuk Yoğun Bakım Servisi	3	1.5
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Servisi	2	1
Çocuk Enfeksiyon	1	0.5
Kardiyoloji Servisi	1	0.5
Ortopedi ve Travmatoloji Servisi	1	0.5

4.2. *P. aeruginosa* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılığı

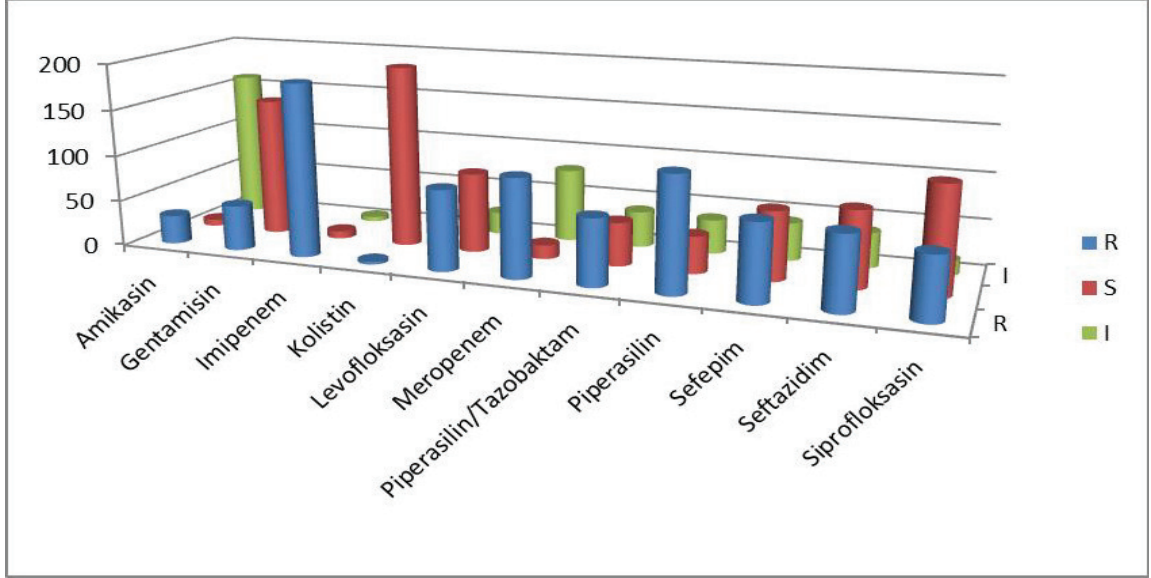
Vitek2 Compact (Biomeriux, France) otomatize cihazı ile çalışılan *P. aeruginosa* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılığı sonuçları tablo 15 ve şekil 4'te olduğu gibi saptanmıştır.

Tablo 15. *P. aeruginosa* izolatlarının vitek2 antimikrobiyal duyarlılığı sonuçları

ANTİBİYOTİKLER	R	S	I	TOPLAM
Amikasin	31 (% 15.57)	7 (% 3.51)	161 (% 80.90)	199
Gentamisin	49 (% 24.62)	150 (% 75.37)	-	199
Imipenem	187 (% 93.5)	8 (% 4)	5 (% 2.5)	200
Kolistin	3 (% 1.50)	196 (% 98.49)	-	199
Levofloksasin	87 (% 44.16)	86 (% 43.65)	24 (% 12.18)	197
Meropenem	106 (% 53)	15 (% 7.5)	79 (% 39.5)	200
Piperasilin	123 (% 61.5)	40 (% 20)	37 (18.5)	200

Tablo 15. Devamı

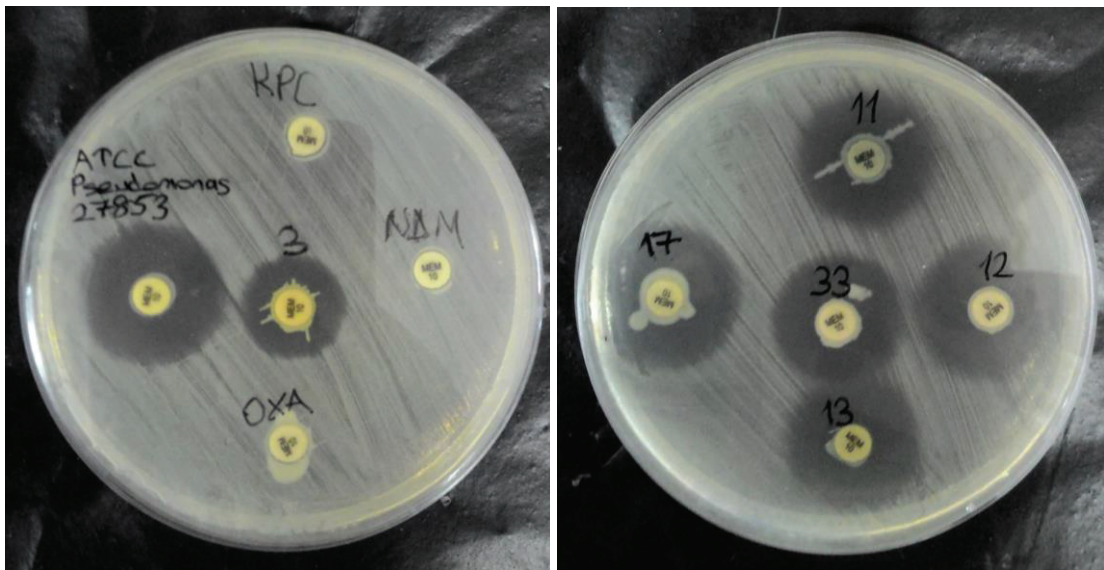
Sefepim	83 (% 41.91)	74 (% 37.37)	41 (% 20.70)	198
Seftazidim	79 (% 39.69)	82 (% 41.20)	38 (% 19.09)	199
Siprofloksasin	67 (% 33.83)	115 (% 58.08)	16 (% 8.08)	198



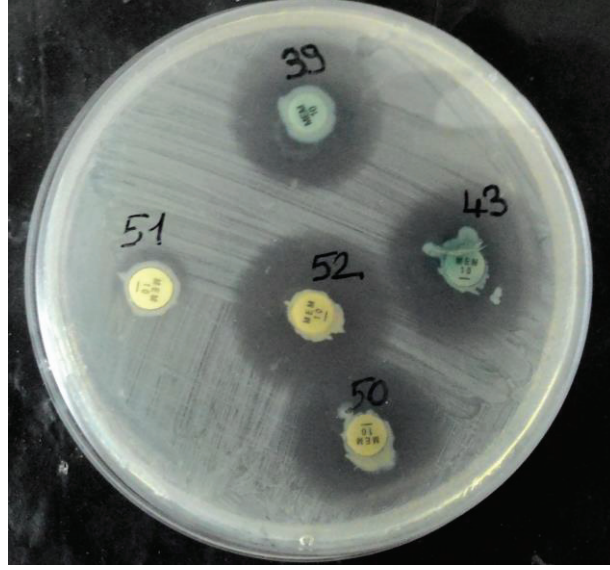
Şekil 4. *P. aeruginosa* izolatlarının vitek2 antimikrobiyal duyarlılığı sonuçları

4.3. Karbapenem inaktivasyon metodu (KİM) sonuçları

P. aeruginosa ile yapılan karbapenem inaktivasyon metodu (KİM) sonuçlarına göre 22 suş pozitif, 178 suş negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Karbapenem inaktivasyon metodu (KİM) değerlendirmesine göre pozitif ve negatif görseller



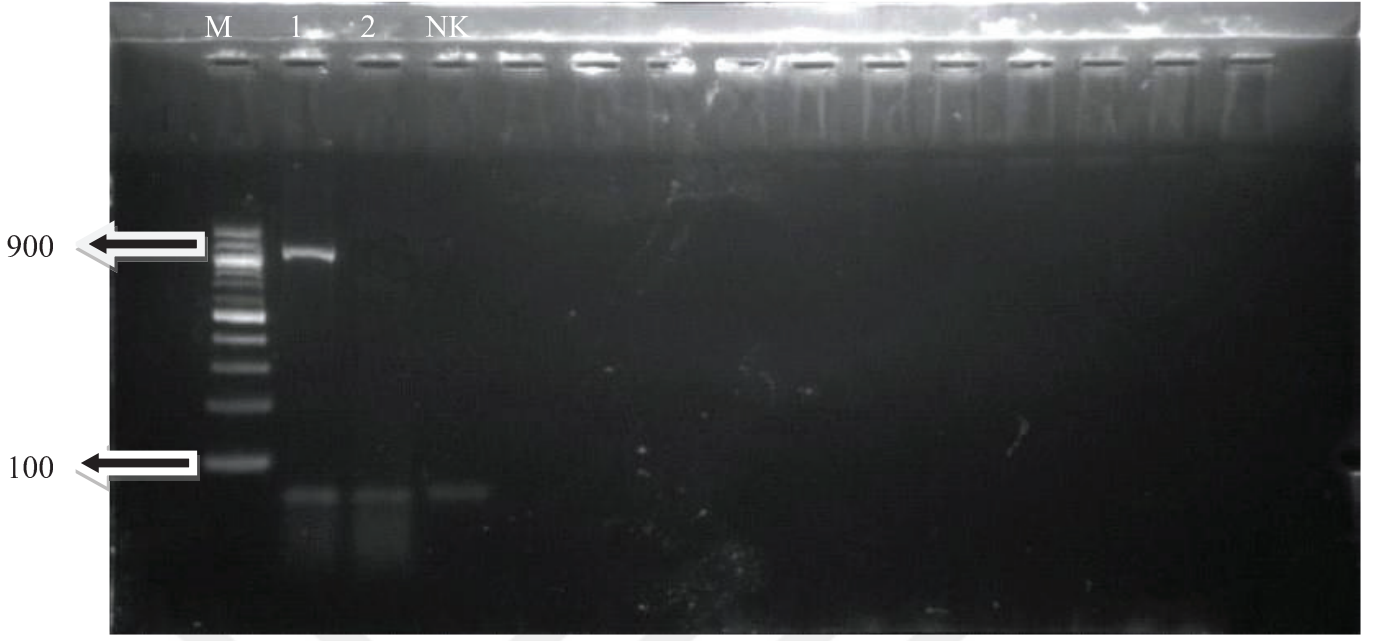
Şekil 5. Devamı

4.4. KPC geni için PZR işlemi

KPC gen bölgesi Doyle ve ark. (2012) tarafından önerildiği şekilde çalışıldı. KPC geni taşıyan pozitif kontrol suşuyla yapılan PZR işlemi jel görüntüsü şekil 6'da gösterildi.

4.4.1. KPC gen bölgesi için PZR işlemi sonuçları

Yapılan PZR işlemi sonucunda 200 *P. aeruginosa* izolatından KPC geni taşıyan izolat saptanmadı.



Şekil 6. KPC pozitif suşla yapılan PZR jel görüntüsü (M; marker, 1; KPC pozitif suş, 2; klinik suş, NK; negatif kontrol)

5. TARTIŞMA

Dünya genelinde yapılan çalışmalarda hastane enfeksiyonlarının %10-%15'inden *P. aeruginosa* sorumlu olduğu bildirilmiştir (Strateva ve Yordanov, 2009). *Pseudomonas* cinsi bakterilerden *P. aeruginosa* kökenleri her ortamda bulunabilir ve hastane ortamında kolay yaşayabilir; ayrıca özellikle çoğul antibiyotik direnci kazanmaları nedeni ile önemli bir yere sahiptirler. *P. aeruginosa* bağışıklık sistemi baskılanmış olanlarda, genel durumu kötü, ağır yanıklı kişilerde, ciddi metabolik hastalığı bulunanlarda, uygunsuz şekilde uzun süre antibiyotik kullananlarda, uzun süre kemoterapi ve radyoterapi alanlarda, yaşlılarda enfeksiyon etkeni olarak önem kazanmaktadır (Kalem ve ark., 2008; DüNDAR ve Tamer, 2009). Antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların geliştirdiği direnç, dünya genelinde sorun oluşturmuştur (Korten ve ark., 2007). Son yıllarda giderek artan ilaç direnci olan bakterilerden biri olan karbapenemlere dirençli *P. aeruginosa* tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de sorun oluşturmaktadır (Gülay, 2014).

Eskitürk ve ark. (1997)'lerinin 105 pseudomonas suşu ile yaptıkları bir çalışmada 41'inin trakeal aspirat, 24'ünün idrar, 17'sinin kan, 21'inin yara yeri, kateter; Tunçbilek ve ark. (1998)'lerinin 94 *P. aeruginosa* suşunun 64'ünün yara yeri, 26'sının idrar, ikisinin kan, ikisinin trakeal aspirat; Turgut ve ark. (2002)'leri yapmış oldukları çalışmada, *P. aeruginosa* kökenlerini % 39.5 ile en sık idrardan ve % 37.2 ile ikinci sıklıkta trakeal aspirattan, % 20.6 ile üçüncü sıklıkta ise yara; Akçay ve ark. (2003)'lerinin 100 *P. aeruginosa* suşunun 45 trakeal aspirat, 23 idrar, 21 yara; DüNDAR ve Tamer (2009)'in, üç yıllık süreçte izole ettikleri 665 *Pseudomonas* suşundan % 28'i idrardan, % 27'si solunum sistemi örneklerinden, % 27'si de deri-yumuşak doku materyalinden; Özdemir ve ark. (2009)'nın yaptığı bir çalışmaya göre 159 *Pseudomonas* suşunun % 34'ü yaradan, % 33'ü trakeal aspirattan, % 12,5'i bronkoalveoler lavajdan, % 8'i kandan; Üstün (2010)'ün yaptığı çalışmaya göre 150 *P. aeruginosa* suşlarının büyük çoğunlukla % 65 yara, % 13 trakeal aspirat ve % 10 idrar; Çaycı (2012)'nin yaptığı çalışmaya göre 300 *P. aeruginosa* izolatlarının % 31 trakeal aspirat, % 22.3 idrar, % 13.3 balgam; Aksoy (2013)'un yaptığı bir çalışmada solunum örneklerinden % 37, idrardan % 20, dokudan % 20; Taşbent (2014)'te 184 karbapenem dirençli *Pseudomonas spp.* suşları ile yapılan bir çalışmada ise tespit edilen örneklerin % 46.1'i bronke alveoler lavaj, % 16.8'i yara, % 9.7'si trakeal aspirasyon mayi, %

8.6'sı ise idrar örneklerinden izole edildiği belirlenmiştir. *P. aeruginosa* suşlarının genellikle en çok izole edildikleri kökenlerin sıklığı ülkemizde yapılan birçok çalışma sonuçlarında benzer olmakla birlikte solunum yolu örnekleri (trakeal aspirat, balgam, bronkoalveolar lavaj sıvısı, boğaz salgısı), yara ve idrar örneklerinden elde edildiği belirlenmiştir (Cesur ve ark., 2002; Ersöz ve ark., 2004; Gündüz ve ark., 2004; Çiftçi ve ark., 2005; Yücel ve ark., 2006; Kalem ve ark., 2008; Kurtoğlu ve ark., 2008; Mansur, 2010; Öztürk ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda da 200 *P. aeruginosa* suşunun en sık izole edilen örnek türleri sırası ile % 34.5 trakeal aspirat, % 18 balgam, % 17 idrar, % 11 eksuda kültürü, % 7.5 kan ve % 5 yaradır. Bu sonuçlarda yapılan önceki sonuçlara benzerlik göstermektedir.

P. aeruginosa suşu ile ülkemizde yapılan çalışmalardaki klinik yüzdelerine bakıldığında Tunçbilek ve ark. (1998) genel cerrahi'den % 36, ortopedi'den % 22, dahiliye servislerinden % 11; Gündüz ve ark. (2004) yoğun bakım ünitelerinden % 43.3, kulak burun boğaz servisinden % 18, cerrahi servisinden % 8.6; Kalem ve ark. (2008) yoğun bakım ünitelerinden % 33, cerrahi servisinde % 22, pediatri % 16; Üstün (2010)'ün yaptığı çalışmaya göre yanık % 31, plastik cerrahi % 15, yoğun bakım ünitelerinden % 9; Öztürk ve ark. (2011)'nin çalışmasında 100 *P. aeruginosa* suşunun 18'i IMP dirençli bulunmuş olup bunların yoğun bakım ünitelerinden % 55.5, cerrahi kliniklerinden % 22, dahiliden % 11; Çaycı (2012)'nin yaptığı çalışmaya göre dahiliye % 14, beyin cerrahisi servisi % 12.3, göğüs hastalıkları servisinden % 10; Aksoy (2013)'ün yaptığı bir çalışmada *P. aeruginosa*'lar en sık yoğun bakım ünitelerinden % 48.5, cerrahi %31.4 ve dahili kliniklerden % 20; Taşbent (2014) yaptıkları çalışmada ise karbapenem dirençli olan Pseudomonasların yoğun bakım ünitelerinden % 70, pediatri % 13 oranında izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bizim çalışma sonuçlarımıza göre *P. aeruginosa*'nın en sık izole edildiği klinik % 36 ile dahiliye olmak üzere, % 10.5 nöroloji servisi, % 10 beyin cerrahi servisi, % 7 genel cerrahi servisi. Bu sonuçlar diğer çalışma sonuçları ile birebir örtüşmemektedir.

Son yıllarda *P. aeruginosa* kökenlerinde hızla artan karbapenem direnci dikkat çekici olmasına rağmen *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan etkili antibiyotikler, beta laktam grubu antibiyotikler içinde en geniş spektruma sahip olan karbapenemlerdir. Yapılan bir çalışmada *P. aeruginosa* izolatlarının 2005-2006, 2007-

2008 yılları arasında antibiyotik duyarlılıkları incelenmiş ve en etkili antibiyotığın karbapenem olduğunu belirtilmiştir (Tunçoğlu ve ark., 2009). Klinikte kullanılan karbapenemler; imipenem, meropenem, ertapenem ve doripenemdir (Mülazımoğlu, 2010; Hamouda ve ark., 2011). *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde imipenem ve meropenem yaygın olarak kullanılan β -laktam antibiyotiklerdir. Bununla birlikte, karbapenem direnci gelişebilir. Karbapenem direnç mekanizmaları arasında porin downregülasyonu, efflux pompası aşırı ekspresyonu ve karbapenem hidrolize edici enzimlerin üretimi de dahil olmak üzere çeşitli mekanizalar yer almaktadır (Lister, 2002; Livermore, 2002). Hidrolize enzimlerin yokluğu; porinlerden OprD'nin kaybı sonucunda, imipenem direncine ve meropenem duyarlılığında azalmaya neden olabilir (Kohler ve ark., 1999). Meropenem direnci, mexAB-oprM pompasının aşırı ekspresyonu ile birlikte OprD kaybı sonucunda meydana gelmektedir (Giske ve ark., 2005). Ayrıca çalışmamızda araştırdığımız KPC genini normalde bulunduğu *K. pneumoniae*'dan farklı cinslere yayılması büyük olasılıkla çeşitli büyüklükteki plazmitle aktarılabilen genetik materyallerle ilişkilidir (Naas ve ark., 2008). Sarı (2005)'nın yaptığı bir çalışmada farklı porin veya pompa-eflüks sistemleri nedeniyle imipenem ve meropenem birbirinden bağımsız duyarlılıklara sahip olabilirler.

Geniş spektruma sahip olan ve bakteri dış membranından hızla geçebilmeleri gibi özelliklerden dolayı çoklu direnç gösteren karbapenemler, gram negatif bakteri enfeksiyonlarında en fazla tercih edilen antibiyotik grubudur. Karbapenem grubu antibiyotiklere karşı gelişen direncin farklı sebepleri olabilmektedir: Karbapenem direncine yol açan nedenlerden biri ilacın hücrede yeterli konsantrasyona ulaşmaması ve en önemlisi karbapenemleri hidrolize eden karbapenemaz enzimlerinin varlığında meydana gelmektedir (Gülay, 2001; Fritshe ve ark., 2005; Walsh, 2008; Bush ve Jacoby, 2010; Nordmann ve ark., 2011; Taşbent ve Özdemir, 2015). Yapılan çalışmalara göre *P. aeruginosa* için karbapenem direnci; OprD kaybı, MexAB-OprM aktif dışa pompalama sistemi, permeabilite mutasyonları, aşırı miktarda kromozomal AmpC beta-laktamaz üretilmesi ve metallo-beta-laktamaz enzimlerinin üretilmesi şeklindedir (Livermore, 2002; Aksoy, 2013). Her ülke ve merkeze göre direnç oranları ve sorumlu olabilecek enzimler değişiklik göstermekle birlikte, yıllar içinde oranlar artmaktadır (Fritshe ve ark., 2005): Yurt dışı ve Türkiye'deki verilerle karşılaştırıldığında çok yüksek karbapenem direnci ülkemizde bildirilmemektedir.

Karbapenemaz aktivitesi eş zamanlı çoklu ilaç direnç gelişimini de beraberinde taşıyarak yüksek mortalite ile seyreden enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu nedenle özellikle yoğun bakım ünitelerinde ciddi enfeksiyonlarda karbapenem duyarlılığını doğru ve mümkün olan en kısa sürede belirlemek etken bakterinin izole edildiği hasta için yaşamsal önem taşımaktadır (Taşbent, 2014).

Kolombiya’da *Enterobacteriaceae* ailesi dışında KPC geninin ilk rapor edildiği çalışma sonuçlarına göre; 3 *P. aeruginosa* suşunda KPC enzimini tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Villegas ve ark., 2007). Sınıf A (serin beta laktamazlar) içinde bulunan KPC-2 ile GES-2 karbapenemazları, sınıf B (metallo beta laktamazlar) içinde bulunan IMP ve VIM esas olarak *P. aeruginosa*’da tespit edilir, fakat bu grup beta laktamazları *Enterobacteriaceae*’larda da gösteren dünya genelinde raporlar bulunmaktadır (Queenan ve Bush, 2007).

Enterobacteriaceae’nin farklı türlerinde KPC-2 geninin ortaya çıkması ve bu genin farklı ülkelerdeki *P. aeruginosa* suşlarına yayılması dünya çapında yaygınlaşma potansiyelini vurgulamaktadır. Bazı durumlarda bu yaygınlaştırma, ortak bir transpozon olan Tn4401 ile ilişkilendirilmiştir (Naas ve ark., 2008).

Bennett ve ark. (2009) karaciğer naklinden sonra meydana gelen bakteriyemi sonucunda, izole edilen *Enterobacter cloacae* ve *Pseudomonas putida* suşlarda KPC-2 geni saptanmıştır. Bu KPC geni *Enterobacter spp.*’de daha önce tanımlanmış olsa da, *P. putida*’da KPC geninin belirlendiği ilk rapordur.

Wolter ve ark. (2009) Porto Riko’da çeşitli hastanelerdeki 513 *P. aeruginosa* suşları ile yaptıkları çalışmada; 6 aylık süre zarfında, 13 suşları PFGE grubuna ayırmışlar ve bu gruplardaki 37 suşu karbapenem dirençli bulmuşlardır. Dört PFGE grubunda alınan 37 suşun 25 tanesi KPC, 7 PFGE grubundan alınan 37 suşun 7 tanesinde ise IMP-18 bulmuşlardır. Bu sonuçlara göre buldukları KPC (KPC-2, KPC-5) pozitif *P. aeruginosa* suşlarının, IMP-18 ve KPC’nin genetik olarak bağımsız suşlarla yayılımlarına işaret ettiklerini belirtmişlerdir.

Akpaka ve ark. (2009) yayınladıkları makalede Trinidad ve Tobago’da *P. aeruginosa*’da KPC geninin ortaya çıktığını raporlamışlardır.

Robledo ve ark. (2010) yaptığı bir çalışmada 17 farklı hastaneden alınan çok ilaca dirençli (MDR) gram negatif bakterilerden olan *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *A. calcoaceticus-baumannii* kompleks izolatlarında beta laktam direncinin ada çapında PCR tabanlı bir sürveyans çalışması sırasında 10 KPC pozitif *Acinetobacter* izolatu tespit edildiği bildirilmiştir. Bu tespit edilen KPC genlerinin sekanslaması sonucunda KPC-2, KPC-3, KPC-4 ve yeni bir varyant olan KPC-10 olduğu belirlenmiştir; ayrıca *Acinetobacter* türlerinde KPC tipi beta-laktamazın bulunduğu belirlendiği ilk rapordur. *P. aeruginosa* izolatlarında ise KPC geni belirlenmemiştir.

Poirel ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, multipleks PCR yöntemiyle 11 ayrı direnç genine (IMP, VIM, NDM, SPM, AIM, DIM, GIM, SIM, KPC, BIC, OXA-48) bakmışlardır. VIM-2 direnç genini *P. aeruginosa* suşlarında, IMP-1 direnç genini ise *K. pneumoniae* suşlarında tespit etmişlerdir. Ancak *P. aeruginosa* izolatlarında KPC geni tespit edilememiştir.

De Araujo Jacome ve ark. (2012) Brezilya'da yoğun bakım ünitesinde yatan iki hastadan ilk kez KPC-2 üreten *Pseudomonas aeruginosa* suşları raporlanmıştır.

Ramirez ve ark. (2013), 8 yıllık çalışmayı yaptıkları kurumda ilk başta KPC üreten *K. pneumoniae* salgınları meydana gelmiştir. Bu salgınlardan önce ve sonra *P. aeruginosa* izolatlarını karşılaştırarak salgından önce alınan izolatlarda KPC geninin tespit edilmediği, ancak salgın sonrasında elde edilen 76 izolatu 33'ünde (% 43) KPC geninin tespit edildiği belirlenmiştir.

Lari ve ark. (2014), yaptıkları bir çalışmada hastanede yatan yanık yaralanmalarından izole edilen 241 *P. aeruginosa* suşlarına yapılan PCR sonucunda İran'da KPC genini ilk kez raporlamışlardır.

Hastanede yatan hastalarla 1998-2012 yılları arasında yapılan bir çalışmada izole ettikleri karbapeneme dirençli 129 *P. aeruginosa* izolatu 33'ünde SPM-1, 4'ünde VIM-2 ve 3'ünde GES-3 gen bölgesini tespit etmişler; bunun dışında 9 suşta SPM-1 ve KPC-2 birlikteliği, 1 suşta da SPM-1, VIM-2 ve KPC-2 gen birlikteliği saptamışlardır (Rizek ve ark., 2014).

Er ve ark. (2015), yatan hastalardan izole ettikleri 195 seftazidime dirençli *P. aeruginosa* suşunda, real-time PCR yöntemiyle direnç genlerine (PER, GES, KPC, VIM, IMP, OXA) bakmışlar; KPC ve PER genlerine rastlamamışlar; fakat 26 izolatta GES-1, 5 izolatta OXA-10, 4 izolatta OXA-14, 4 izolatta VIM-2, 2 izolatta IMP bulmuşlardır. Ayrıca bu pozitif bulunan izolatların imipeneme dirençli olduğu saptanmıştır.

Dotson ve ark. (2016), yaptıkları bir çalışmada 2014 yılında bir hastadan izole edilen *P. aeruginosa* suşu çoklu ilaç direnci sergilemiş ve izole edilen *P. aeruginosa*'da VIM geni bulunmazken, plazmid üzerinde bulunan Tn4401b transpozonu ile *K. pneumoniae* karbapenemaz enzimini kodlayan KPC genini barındığı belirlenmiştir.

Kabir ve ark. (2016) *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter spp.*'le yapılan bir çalışma sonucunda, *P. aeruginosa*'da KPC geni belirlenmemiştir.

Chalhoub ve ark. (2016) yaptığı bir çalışmada kistik fibrozis (KF) hastalarından izole edilen 6 karbapenemaz negatif *P. aeruginosa* ve hastane kökenli pnömoni (HAP) hastalarında 7 karbapenemaz pozitif izolatta yüksek seviyede meropenem direncine yol açan mekanizmanın belirlenmesi amaçlanmıştır. β -Laktamazlar, fenotipik testler ve PZR ile araştırılmıştır. OprD geni ve promotörü dizilimi; protein ekspresyonu, SDS-PAGE ile belirlenmiştir. MexA, mexX, mexC ve mexE transkriptleri gerçek zamanlı ve semikantitatif PCR ile değerlendirilmiştir. Tüm izolatlar, mexA, mexX ve mexC'nin transkripsiyon düzeylerinde bir artış, kısaltılmış proteinlerin üretilmesine yol açan OprD mutasyonları göstermiştir. AmpC tipi sefalosporinazlar CF izolatlarında aşırı eksprese edilmiştir ve VIM-2, HAP izolatlarında eksprese edilmiştir. Bakterilere eşlik eden eflüks ve azalmış alım ile antibiyotik atılımının, AmpC tipi sefalosporinazları aşırı ifade eden izolatlarda meropenem için yüksek seviyede direnç sağlamak için gerekmektedir. Bu izolatlardaki eflüks baskın olduğu için, meropenemin imipenemden daha az aktif olduğu bir paradoksal fenotip vermiştir. Hem karbapenemlerin hem de muhtemel direnç mekanizmalarının hızlı bir şekilde aydınlatılmasına eş zamanlı duyarlılık testleri yapılması gerekli olduğu görülmüştür. Bizim çalışma sonuçlarımıza göre de *P. aeruginosa*'da KPC geni bulunamamıştır.

Gram-negatif basillerdeki karbapenemaz aktivitesini sekiz saat içinde tespit etmek için karbapenem inaktivasyon metodu (KİM) olarak adlandırılan yeni bir fenotipik test geliştirilmiştir. Bu yöntem KPC, NDM, OXA-48, VIM, IMP ve OXA-23 karbapenemazları kodlayan genleri saptamak için PZR ile elde edilen sonuçlarla yüksek uyum gösterdiği bulunmuştur. Enterobacteriaceae (örn., *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Enterobacter cloacae*), *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'de çeşitli karbapenemaz üreten genlerin belirlendiği PZR ile KİM'nun sonuçları karşılaştırıldığında; KİM'nun karbapenemaz aktivitesinin güvenilir şekilde tespit edebilen fenotipik tarama yöntemi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca KİM testinin geçerliliğini test etmek için *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *E. cloacae*'ın farklı optik yoğunlukları (OD₅₉₅ 2,6; OD₅₉₅ 13; OD₅₉₅ 65) kullanılmış; bu deneme sonucunda *E.coli* (ATCC 25922)'nin tüm yoğunlukları için negatif kaldığı gözlenmiştir. Çalışmada test edilen 411 izolatın PZR yöntemi ile belirlenen karbapenemaz geni pozitif olan 67 (% 16.3) izolatın, KİM sonucuna göre 65'i (% 97.0) pozitif olduğu gözlenmiştir. Sadece OXA-23 taşıyan iki *A. baumannii* izolatında, KİM ile karbapenemaz aktivitesi tespit edilememiştir. Çalışmada kullanılan *Pseudomonas* izolatları arasında 387 izolatın 49'unda (% 12.7) en sık tespit edilen karbapenemaz geninin VIM olduğu ve KPC geninin belirlenmediği görülmüştür (Van der Zwaluw ve ark., 2015). Bayramoğlu ve ark. (2016), 2008-2014 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden elde ettikleri ve karbapenemlerden (ertapenem, imipenem veya meropenem) en az birine dirençli *Enterobacteriaceae* izolatları dahil ettikleri çalışmalarında KİM ile PZR karbapenemaz geni saptanan tüm izolatlar pozitif, karbapenemaz geni saptanmayan tüm izolatlar negatif bulunmuş; yöntemin duyarlılık ve özgüllüğü % 100 olarak hesaplanmıştır. *Enterobacteriaceae* üyelerinde KİM'nun özgüllüğünü ve duyarlılık Van der Zwaluw ve ark. (2015) sırası ile % 100, % 100; Tijet ve ark. (2016) yaptığı çalışmada ise % 100, % 98.8 olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmalarda KİM'nun değerlendirilmesinin bir gece inkübasyondan sonra yapılması tercih edilmiştir. Ancak Bayramoğlu ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada ise değerlendirmeler 6 saat inkübasyondan sonra yapılmasına rağmen olumlu sonuçlarının alındığı belirlenmiştir. Bizim çalışmamız sonuçlarımızın KİM'nun sonuçları ile örtüşüp örtüşmediğine sadece KPC geni varlığına baktığımız için net olarak belirlenememiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıp Laboratuvarları Mikrobiyoloji Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı'na, Nisan 2015-Mayıs 2016 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 200 karbapenem dirençli *P. aeruginosa* izolatu test edildi.
- *P. aeruginosa* izolatlarının en sık izole edildiği örnek türü % 34.5 ile trakeal aspirat olup bunu % 18 ile balgam ve % 17 ile idrar örnekleri takip etmekte olup; en az izole edildiği örnek türü ise % 0.5 ile sürüntü ve bronkoalveolar lavaj (BAL) örnek türlerinin olduğu belirlenmiştir.
- *P. aeruginosa* örneklerinin en büyük bölümü dahiliye servisinden (% 36); en az ise ortopedi ve travmatoloji, kardiyoloji, çocuk enfeksiyon servislerinden (% 0.5) izole edildiği belirlenmiştir.
- Çalışmaya dahil edilen *P. aeruginosa* izolatlarının imipenem ve meropenem direnç oranları sırası ile % 93.5, % 53 olduğu belirlenmiştir. İmipenem ve meropenem dışındaki antibiyotiklerde en yüksek direncin piperasilin, en düşük direncin kolistinde; en yüksek duyarlılığın kolistin, en düşük duyarlılığın ise amikaside olduğu belirlenmiştir.
- Çalışmamızdaki *P. aeruginosa* izolatlarında PZR yöntemiyle araştırılan KPC geni saptanamadı.
- Çalışma suşlarına uygulanan KİM'nun sonuçlarına göre 22'si pozitif, 178'si negatiftir. KİM'nun duyarlılık ve özgülüğünün yüksek olması, uygulama ve değerlendirmenin kolay olması ve aynı gün içinde sonuç alınabilmesi gibi avantajlara sahip olması rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında iyi bir alternatif oluşturmaktadır. Ayrıca bu yöntemle sadece karbapenemaz varlığı saptandığı için karbapenemaz gen varlığını araştırmak için moleküler yöntemlere ihtiyaç bulunmaktadır.
- Çalışmamız bölgesel olarak yapıldığı için epidemiyolojik öneme sahiptir.

KAYNAKLAR

- Akalın, H. *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonları ve tedavisi. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi KLİMİK, Görükle-Bursa, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, 2007.
- Akçay SŞ, Topkaya A, Oğuzoğlu N, Küçükercan M, Ertem SA, Gökteş P, Hastane Enfeksiyonu Etkeni *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında İmipenem ve Meropenem Duyarlılığı. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* 2003; 17(4):465-469.
- Akkurt L, Havuz GS, Uyar Y, Karadağ A, Esen G. 1999-2000 yıllarında yoğun bakım ünitelerinden izole edilen bakterilerde antibiyotik direnci. *ANKEM Derg* 2002;16:14-7.
- Akpaka PE, Swanston WH, Ihemere HN. Emergence of KPC producing *Pseudomonas aeruginosa* in Trinidad and Tobago. *Journal of Clinical Microbiology* 2009; 47(8): 2670-2671.
- Aksoy MD. Karbapenem dirençli *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinde metallo beta laktamaz enzimlerinin fenotipik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. Trakya üniversitesi, Edirne, Uzmanlık tezi, 2013.
- Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant Pseudo-monas aeruginosa: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(1):43-8.
- Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980;289(1036):321-331.
- Ayaz C. Beta laktamların genel özellikleri ve penisilinler. İn: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (Eds). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2008; 266-288.
- Aydın, F. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Değişik Yöntemlerle Çeşitli Antimikrobiyellere Duyarlılıklarının Araştırılması. Ankara Üniversitesi, Ankara, Uzmanlık Tezi, 2001.
- Bassetti M, Nicolini L, Esposito S, Righi E, Viscoli C. Current status of newer carbapenems. *Curr Med Chem* 2009;16:564-75.
- Bayramoğlu G, Uluçam G, Özgür GÇ. Karbapenemaz Üreten Enterobacteriaceae Suşlarının Saptanmasında Karbapenem İnaktivasyon Yönteminin Değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2016;50(3):505-507. doi: 10.5578/mb.26497.
- Bennett JW, Herrera ML, Lewis JS 2nd, Wickes BW, Jorgensen JH. KPC-2-producing *Enterobacter cloacae* and *Pseudomonas putida* coinfection in a liver transplant recipient. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(1):292-294.
- Bergogne-Berezin, E. *Pseudomonas* and miscellaneous gram-negative bacilli. *Infectious diseases* 2004;2203-2217.
- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri enfeksiyonları, 10. Baskı, İzmir, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2000; 175-197.
- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, İzmir, 2009.

- Blondel-Hill M, Henry DA, Speert PD. *Pseudomonas*. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology, 9th Ed. Volume 1, ASM press Washington, DC. 2007;734-748.
- Bonfiglio G, Russo G, Nicoletti G. Recent developments in carbapenems. *Expert Opin Investig Drugs*. 2002;11(4):529-44.
- Boromo RA, Szabo D. Mechanisms of Multidrug Resistance in *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006;43:49-56.
- Budak S, Aktaş Z, Erdem H. Enterik gram-negatif bakterilerde laboratuvar dan kliniğe karbapenemazlar. *J Infect Microb Antimicrob* 2012;1:1-11.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39(6):1211-1233.
- Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2010; 969-976.
- Bush K. Characterization of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33(3):259-263.
- Bush K. Metallo-beta-lactamases: a class apart. *Clin Infect Dis* 1998; 27 Suppl 1:S48-S53.
- Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, Samore MH. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(6):1379-82.
- Cesur S, Albayrak F, Birengel S, Kolcu Z, Tekeli E. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının karbapenem ve diğer betalaktam antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyal Cem Derg* 2002;32(3-4):203-6.
- Chalhoub H, Sáenz Y, Rodriguez-Villalobos H, Denis O, Kahl BC, Tulkens PM, Van Bambeke F. High-level resistance to meropenem in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in the absence of carbapenemases: role of active efflux and porin alterations. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2016.
- Chuanchuen R, Narasaki CT, Schweizer HP. The MexJK efflux pump of *Pseudomonas aeruginosa* requires OprM for antibiotic efflux but not for efflux of triclosan. *J Bact* 2002;184:5036-5044.
- Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? *Lancet Infect Dis* 2011;11(5):381-93.
- Çakar A. Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde ayrıştırılan *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında metallo-beta-laktamaz enziminin fenotipik ve genotipik yöntemler ile araştırılması. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Doktora Tezi, 2005.
- Çaycı, TY. *Pseudomonas aeruginosa* klinik izolatlarında plazmit aracılı kinolon direncinin araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Uzmanlık tezi, 2012.

- Çelik N. Çoğul Dirençli Nozokomiyal *P. aeruginosa* suşlarında Beta Laktamazların Fenotipik ve Genotipik Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Doktora Tezi, 2007.
- Çıragil P. Pseudomonas ve İlişkili Bakteriler. In: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Tıbbi Mikrobiyoloji, Atlas Kitapçılık. Ankara, 2010;333-341.
- Çiftçi Hİ, Çetinkaya Z, Aktepe OC, Arslan F, Altındış M. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2005;35(2):98-102.
- Davis DB, Dulbecco R, Eisen H, Ginsberg HS and Wood WB. Microbiology. Hober Medical Division, New York. 1968;774:756-757.
- De Araujo Jacome PRL, Alves LR, Cabral AB, Lopes ACS, Maciel MAV. First report of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Brazil. Antimicrobial agents and chemotherapy 2012;56(9):4990-4990.
- Defez C, Fabbro-Peray P, Bouziges N et al. Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infection. J Hosp Infect 2004;57(3):209-16.
- Dotson GA, Dekker JP, Palmore TN, Segre JA, Conlan S. NISC Comparative Sequencing Program. Draft Genome Sequence of a Klebsiella pneumoniae Carbapenemase-Positive Sequence Type 111 *Pseudomonas aeruginosa* Strain. Genome announcements 2016;4(1):e01663-15.
- Doyle D, Peirano G, Lascols C, Lloyd T, Church DL, Pitout JD. Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases. Journal of clinical microbiology 2012;50(12):3877-3880.
- Dündar D, Tamer GS. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnci: Üç yıllık değerlendirme. ANKEM Derg 2009;23(1):17-21.
- El Amin N, Giske CG, Jalal S, Keijser B, Kronvall G, Wretling B. Carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa*: alterations of porin OprD and efflux proteins do not fully explain resistance patterns observed in clinical isolates. APMIS 2005;113:187-96
- El Garch F, Bogaerts P, Bebrone C, Galleni M, Glupczynski Y. OXA-198, an acquired carbapenem-hydrolyzing class D β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2011;55(10):4828-33.
- Er H, Altındış M, Aşık G, Demir C. Seftazidime dirençli *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında beta-laktamazların moleküler epidemiyolojisi. Mikrobiyol Bul 2015;49(2):156-165.
- Erdem B. Pseudomonaslar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Mutlu G, Emir T, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö. Editörler. Ankara, Güneş Kitabevi, 1999;733-738.
- Erdem B. Pseudomonaslar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji In: Ustaçelebi Ş, Ankara, Güneş Kitabevi, 1999;551-566.

- Ersöz G, Otağ F, Bayındır İ, Kandemir Ö, Aslan G, Kaya A. Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında antibiyotik direnci ve karbapenemlere dirençli suşlar için meropenemin MİK değerleri. ANKEM Derg 2004;18(1):28-31.
- Eskitürk A, Çıragil P, Topkaya A, Söyletir G. Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde yatırılarak izlenen hastalardan izole edilen mikroorganizmaların 1996 yılı analizi. VIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 06-10 Ekim 1997 Kongre Program ve Özet Kitabı'nda. İstanbul: KLİMİK Derneği, 1997:529.
- Essack SY. The development of beta-lactam antibiotics in response to the evolution of beta-lactamases. Pharmaceutical Research 2001;18:1391-9.
- Falagas ME, Koletsis PK, Kopterides P, Michalopoulos A: Risk factors for isolation of strains susceptible only to polymyxin among patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. Antimicrob Agents Chemother 2006;50(7):2541-3.
- Falagas ME, Kopterides P. Risk factors for the isolation of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: a systematic review of the literature. Journal of Hospital Infection 2006;64:7-15.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. International 12. edition, Mosby, U.S.A. 2007.
- Franklin MJ, Nivens DE, Weadge JT, Howell PL. Biosynthesis of the *Pseudomonas aeruginosa* extracellular polysaccharides, alginate, Pel, and Psl. *Pseudomonas aeruginosa*, Biology, Genetics, and Host-pathogen Interactions 2011;49.
- Fritsche TR, Sader HS, Toleman MA, Walsh TR, Jones RN. Emerging metallo-beta-lactamase-mediated resistances: A summary report from the worldwide SENTRY antimicrobial surveillance program. Clin Infect Dis 2005;41:S276-8.
- Frobisher M. Fundamentals of Microbiology. W. B. Saunders Company, USA. 1968;457.
- Giamarellos-Bourboulis EJ, Papadimitriou E, Galanakis N et al: Multidrug resistance to antimicrobials as a predominant factor influencing patient survival. Int J Antimicrob Agents 2006;27(6): 476-81.
- Giamarellou H. Prescribing guidelines for severe *Pseudomonas* infections. J Antimicrob Chemother 2002;49:229-233.
- Giske CG, Boren C, Wretling B, Kronvall G. Meropenem susceptibility breakpoint for *Pseudomonas aeruginosa* strains hyperproducing mexB mRNA. Clin Microbiol Infect 2005;11:662-669.
- Gootz TD, Lescoe MK, Dib-Hajj F, Dougherty BA, He W, Della-Latta P, Huard RC. Genetic organization of transposase regions surrounding blaKPC carbapenemase genes on plasmids from *Klebsiella* strains isolated in a New York City hospital. Antimicrobial agents and chemotherapy 2009;53(5):1998-2004.
- Govan JRW, Deretic V. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. American Society for Microbiology 1996;60(3):539-574.

- Gransden WR, Leibovici L, Eykyn SJ, Pitlik SD, Sarma Z, Konigsberger H. Risk factors and a clinical index for diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. Clin Microbiol Infect 1995;1:119-123.
- Gülay Z. Antibakteriyel ilaçların etki mekanizmaları. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (Eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi. 2008;227-243.
- Gülay Z. Antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve çözüm önerileri: beta- laktamlara ve karbapenemlere direnç. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2001;5:210-229.
- Gülay Z. Hücre duvar sentezini etkileyen antibakteriyaller. Ankem Derg 2003;17:192204.
- Gülay Z, Laabei M, Recker M, Rudkin JK, Aldeljawy M, Sloan TJ, Yajjala VK. Predicting the virulence of MRSA from its genome sequence. Genome research 2014;24(5):839-849.
- Gündüz T, Arısoy A, Algün Ü, Özbakkaloğlu B. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının aminoglikozidlere in-vitro duyarlılıkları. ANKEM Derg 2004;18(4):224-7.
- Gür D. *Pseudomonas*'lar, *Acinetobacter*'ler ve Ender Gram Negatif Bakteriler. In: Jawetz, Melnick, Adelberg. Tıbbi Mikrobiyoloji, Nobel Tıp Kitabevleri. 2010;263-269.
- Hamouda A, Findlay J, Amyes SGB. Carbapenems: do they have a future? Journal of Medical Microbiology 2011;60:1229-1230.
- Hancock REW, Speert DP. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. Drug Resis Up.3 2000;247- 255.
- Hill EB, Henry DA, Speert DP. *Pseudomonas*. Murray PR, Boran EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology. Şener B. (Çeviren). 9. Baskı, 1.cilt, Ankara, Atlas kitapçılık. 2009;734-743.
- Hsu DI, Okamoto MP, Murthy R, Wong-Beringer A. Fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors for acquisition and impact on outcomes. J Antimicrob Chemother 2005;55(4):535-41.
- Ilgaz, A. Özel Mikrobiyoloji Medisan Yayınları, Ankara, 1999; 91–96.
- Jalal S, Ciofu O, Hoiby N, Gotoh H, Wretlich N. Molecular mechanisms of fluoroquinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:710-715.
- Jovcic B, Lepsanovic Z, Suljagic V, et al. Emergence of NDM-1 metallo-β-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Serbia. Antimicrob Agents Chemother 2011;55(8):3929-31.
- Kabir MH, Meunier D, Hopkins KL, Giske CG, Woodford N. A two-centre evaluation of RAPIDEC® CARBA NP for carbapenemase detection in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter spp*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2016;dkv468.
- Kalem F, Gündem NS, Feyzioğlu B, Arslan U, Turncer İ. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. ANKEM Derg 2008;22(3):123-6.

- Kaye KS, Kanafani ZA, Dodds AE, Engemann JJ, Weber SG, Carmeli Y. Differential effects of levo-floxacin and ciprofloxacin on the risk for isolation of quinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2006;50(6):2192-6.
- Kılıç, Ümit, Tayfur DEMİRAY, and Mustafa ALTINDIŞ. Karbapenemaz Üreten Enterobacteriaceae İzolatlarının Saptanmasında Fenotipik Ve Genotipik Metotlar. *ANKEM Derg* 2016; 30(2):62-75.
- Koh AY, Priebe GP, Pier GB. Virulence of *Pseudomonas aeruginosa* in a murine model of gastrointestinal colonization and dissemination in neutropenia. *Infect Immun* 2005;73:2262-2272.
- Kohler T, Michea-Hamzeshpour M, Epp SF, Pechere JC. Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux systems. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:424-427.
- Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P. Turkish MYSTIC Study Group: Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000-2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59(4):453-7.
- Kurtoğlu MG, Bozkurt H, Yaman G, Aygül K, Bayram Y, Berktaş M. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobik direnci, *Selçuk Tıp Derg* 2008;24(1):1-6.
- Lambert PA. Mechanisms of Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J R Soc Med* 2002;41:22-26.
- Lari AR, Azimi L, Rahbar M, Alaghebandan R, Sattarzadeh-Tabrizi M. First report of Klebsiella pneumonia carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in Iran: phenotypic and genotypic methods. *GMS Hygiene and Infection Control* 2014;Vol.9(1):ISSN 2196-5226.
- Lau GW, Hassett DJ, Ran H, Kong F. The role of pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* infection. *TRENDS in Molecular Medicine* 2004;10(12):600-605.
- Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. *Bilimsel Tıp Yayınevi* 2008;307-21.
- Lister PD, Wolter DJ, Hansen ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical Microbiology Reviews* 2009;22(4):582-610.
- Lister PD. Chromosomally-encoded resistance mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa*: therapeutic implications. *Am J Pharmacogenomics* 2002;2:235-243.
- Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clin Infect Dis* 2002;34:634-640.
- Livermore DM, Woodford N. Carbapenemases: a problem in waiting. *Curr Opin Microbiol.* 2000;3:489-95.
- Livermore DM. Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8(4):557-584.
- Maejima K, Deitch EA, Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of rats receiving thermal injury. *Infect Immun* 1984;1:6-10.

- Mansur A. Turgut Özal Tıp Merkezinde 2009 Yılında Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Antibiyotik Direnç, İndüklenebilir Beta Laktamaz Ve Metallo Beta-Laktamaz Oranlarının Belirlenmesi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Malatya, Uzmanlık tezi, 2010.
- Mesaros N, Nordmann P, Plésiat P, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. Clin Microbiol Infect 2007;13(6):560-78.
- Murray BR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual Of Clinical Microbiology, (Çev. Ed.) Başustaoğlu A. 9. Basım, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. Elsevier-Mosby 7 th Ed. 2008;358-367.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. 6th ed. Philadelphia, USA: Mosby Elsevier 2008;333-338.
- Mülazımoğlu L. 1986'dan günümüze karbapenemler. ANKEM Derg 2010;24(Ek 2):33-35.
- Naas T, Cuzon G, Villages MV. et al. Genetic structures at the origin of acquisition of the beta lactamase bla KPC gene. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2008;52(4):1257-1263.
- Nordmann P, Guibert M. Extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 1998;42(2):128-131.
- Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global Spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae Emerg Infect Dis 2011;17(10):1791-1798.
- Öcal D. Gram negatif bakterilerde antibakteriyal direncin fenotipik yöntemler ile tayin ve bildirimi. Ankem Derg 2012;26(3):154-164.
- Özan M. Ankara Garnizonundaki Askeri Birliklerin İçme Sularında Membran Filtrasyon Tekniği ile *Pseudomonas aeruginosa*'nın İzolasyonu ve İdentifikasyonu Üzerine Araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Yüksek Lisans Tezi, 1996.
- Özdemir M, Erayman İ, Türkdäği H, Baykan M, Baysal B. Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. ANKEM Derg 2009;23(3):122-6.
- Öztürk CE, Çalışkan E, Şahin İ. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci ve metallo-beta-laktamaz sıklığı. ANKEM Derg 2011;25(1):42-7.
- Pier GB, Ramphal R. *Pseudomonas aeruginosa*, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases, 6. baskı" kitabında s. 2587-615, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005.
- Poirel L, Nordmann P. Acquired carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases and their genetic support. Curr Pharm Biotechnol 2002; 3(2):117-127.
- Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2011;70:119-123.

- Poirel L, Weldhagen GF, Naas T, De Champs C, Dove MG, Nordmann P. GES-2, a class A beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* with increased hydrolysis of imipenem. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2598-603.
- Pollack M. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practises of Infectious Diseases, 7th ed. Pp.1673-1690, Elsevier Chirchill Livingstone Philadelphia, 2005.
- Pollack M. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition, Elsevier, Philadelphia, 2002;2:2310-2335.
- Poole K, Tetra K, Zhao Q, Neshat S. Expression of the multidrug resistance operon MexA-Mex B operon expression. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:2021-2028.
- Pratt L, Kolter R. Genetic analyses of Bacterial Biofilm Formation. *Curr Opin Microbiol* 1999;2:598-603.
- Pullukçu H, Aydemir Ş, Turhan A, Tünger A, Özinel MA, Ulusoy S. Normalde steril örneklerden soyutlanan *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları: Beş yıllık sonuçların değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Derg* 2006;20(2):111-6.
- Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the Versatile beta-Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews* 2007;20(3):440-458.
- Ramírez DG, Nicola F, Zarate S, Relloso S, Smayevsky J, Arduino S. Emergence of *Pseudomonas aeruginosa* with KPC-type carbapenemase in a teaching hospital: an 8-year study. *Journal of medical microbiology* 2013;62(10):1565-1570.
- Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:223-32.
- Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System, *Crit Care Med* 1999;27(5):887-92.
- Rizek C, Fu L, Dos Santos LC, et al. Characterization of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates, carrying multiple genes coding for this antibiotic resistance. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2014;13:43.
- Robledo IE, Aquino EE, Sante MI. et al. Detection of KPC in *Acinetobacter spp.* In Puerto Rico. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010;54(3): 1354-1357.
- Robledo IE, Aquino EE, Va GJ. Detection of the KPC Gene in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* during a PCR-Based Nosocomial Surveillance Study in Puerto Rico. *Antimicrob Agents Ch* 2011;55(6):2968-2970.
- Rodriguez-Martinez JM, Poirel L, Nordmann P. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(11):4783-8.
- Sacha P, Wiczorek P, Hauschild T, Zórawski M, Olszańska D, Tryniszewska E. Metallo- β -lactamases of *Pseudomonas aeruginosa*-a novel mechanism

- resistance to β -lactam antibiotics. *Folia Histochemica Et Cytobiologica* 2008;46:137-142.
- Sarı H. Karbapenemlere dirençli gram-negatif basil izolatlarında imipenem-EDTA/ Meropenem-EDTA disk yöntemi ve modifiye hodge testi ile metallo-beta-laktamaz (MBL) varlığının araştırılması. İstanbul, Uzmanlık tezi, 2005.
- Strateva T, Yordanov D. *Pseudomonas aeruginosa*-a phenomenon of the bacterial resistance. *Journal of the Medical Microbiology* 2009;58:1133-1148.
- Şenol E. Karbapenemler ve monobaktamlar. İn: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (Eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2008;288-293.
- Şenol E. Karbapenemlerin yeni açılımları. *ANKEM Derg* 2009;23(Ek 2):1416.
- Taşbent FE, Özdemir M. *Pseudomonas* suşlarında OXA tipi karbapenemazların varlığı: Türkiye'den ilk bildirim. *Mikrobiyol Bul* 2015;49(1):26-34.
- Taşbent FE. Karbapenem dirençli *Pseudomonas* suşlarında OXA-23, OXA-40, OXA-58 genlerinin moleküler yöntemle tespiti. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya, Uzmanlık tezi, 2014.
- Tijet N, Patel SN, Melano RG. Detection of carbapenemase activity in Enterobacteriaceae: comparison of the carbapenem inactivation method versus the Carba NP test. *J Antimicrob Chemother* 2016;71(1):274-6.
- Topçu Albayrak G. Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olan *P. aeruginosa* Kökenlerinde Çift Disk Sinerji Testi ve Kombine Çift Disk Sinerji ile Metallo-Beta-Laktamaz Varlığının Araştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2008.
- Tunçbilek S, Tezeren D, Balaban N ve ark. Hastane enfeksiyonu etkeni *Pseudomonas aeruginosa*'ların in vitro antibiyotik duyarlılıkları. *İnfek Derg* 1998;12:361-4.
- Tunçoğlu E, Yenişehirli G, Bulut Y. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. *ANKEM Derg* 2009;23(2):54-58.
- Turgut H, Turhanoğlu M, Çetin ÇB, Yalçın AN. Hastane enfeksiyonu etkeni *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının bazı antibiyotiklere direnci. *İnfek Derg* 2002;16:63-6.
- Ustaçelebi Ş, Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö. Temel Ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
- Üstün C, Hastane Kökenli Karbapenem Dirençli Ve Duyarlı *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Oranları, *ANKEM Derg* 2010;24(1):1-6.
- Vahaboğlu H, Akhan S. *P. aeruginosa* ve diğer *Pseudomonas* türleri. İn: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (Eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2008;2175-2186.
- Van der Zwaluw, de Haan K, Pluister A, Bootsma GN, de Neeling HJ, A. J., & Schouls, L. M. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PloS one* 2015;10(3):e0123690.

- Vedel G, Belaouaj A, Gilly L, Labia R, Philippon A, Nevot P et al. Clinical isolates of *Escherichia coli* producing TRI beta-lactamases: novel TEMenzymes conferring resistance to beta-lactamase inhibitors. *J Antimicrob Chemother* 1992;30(4):449-462.
- Villegas MV, Lolans K, Correa A. et al. First Identification of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Producing a KPC-Type Carbapenem-Hydrolyzing Beta- Lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(4):1553-1555.
- Walsh TR. Clinically significant carbapenemases: an update. *Curr Opin Infect Dis* 2008;21(4):367-71.
- Walther-Rasmussen J, Høiby N. Class A carbapenemases. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2007;60(3):470-482.
- Wenstern RA, Heiden MK. Multiple drug resistant pathogenes: Epidemiology and control. In: Jarvis WR (Eds.). *Bennett & Brachman's Hospital Infections*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 2007.p.215-36.
- Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 3. Basım, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2008.
- Wilson SG, Miles AA. *Principles of Bacteriology and Immunity*. Edward Arnold (Publishers) Ltd, London, 1964;636–643.
- Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams Wilkins. 2006; 317-323 p.
- Wolter DJ, Khalaf N, Robledo IE, Va'zquez GJ, Sante MI, Aquino EE, Goering RV, Hanson ND. Surveillance of carbapenemresistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Puerto Rican medical center hospitals: dissemination of KPC and IMP-18 lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother* 2009;53:1660–1664.
- Yücel M, Yavuz T, Kaya D, Behçet M, Öztürk CE, Şahin İ. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotiklere direnç oranlarının yıllar içinde değişmelerinin izlenmesi. *ANKEM Derg* 2006;20(3):152-5.
- Zhao W, Hu Z. β -lactamases identifiien in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Critical Reviews in Microbiology* 2010;36:245-258.
- URL1 :http://www.visualphotos.com/image/1x7466919/negatively_stained_pseudomonas_aeruginosa, 2012.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: İlknur BIYIK

Doğum Yeri: Sürmene

Doğum Tarihi: 03.08.1990

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü 2013-Mezun

Anadolu Üniversitesi İktisat Fakültesi Kamu Yönetimi 2015-Mezun

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü 2016-Mezun

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: -

E-posta: ilknurbiyik1@hotmail.com

