



**T.C.
RİZE VALİLİĞİ
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
T.C. Sağlık Bakanlığı Recep Tayyip Erdoğan
Üniversitesi
Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Tıbbi ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı**



**BURKHOLDERIA CEPACIA KOMPLEKS
TÜRLERİNİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK
YÖNTEMLERLE TANIMLANMASI VE ANTİBİYOTİK
DUYARLILIĞI**

Dr. Yunus Emre ALPDOĞAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

RİZE

2024



**T.C.
RİZE VALİLİĞİ
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
T.C. Sağlık Bakanlığı Recep Tayyip Erdoğan
Üniversitesi
Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Tıbbi ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı**



**BURKHOLDERIA CEPACIA KOMPLEKS
TÜRLERİNİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK
YÖNTEMLERLE TANIMLANMASI VE ANTİBİYOTİK
DUYARLILIĞI**

Dr. Yunus Emre ALPDOĞAN

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi İlkay BAHÇECİ

Prof. Dr. Zihni Acar YAZICI (İkinci Danışman)

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

Bu çalışma TTU-2024-1631 numaralı proje kodu ile RTEÜ-BAP birimi tarafından araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

RİZE

2024

TEŞEKKÜR

Katkısı olanlara teşekkürler.

Dr. Yunus Emre ALPDOĞAN

RİZE, 2024



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	3
İÇİNDEKİLER.....	v
KISALTMALAR	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. GENEL MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLER	3
2.2. TAKSONOMİ	4
2.3. EPİDEMİYOLOJİ	6
2.4. PATOGENEZ	8
2.4.1. Antimikrobiyal Direnç	9
2.4.1.1. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları	9
2.4.2. Kolonizasyon Faktörleri	10
2.4.2.1. Flagella	10
2.4.2.2. Adezyon	11
2.4.2.3. Doku Hasarı	12
2.4.2.4. Biyofilm	12
2.4.3. Hücre Yüzey Özellikleri	13
2.4.3.1. Lipopolisakkarit	13
2.4.3.2. Demir Alımı	13
2.4.3.3. Ekzopolisakkarit	13
2.4.4. Protein Sekresyon Sistemleri	14

2.5. NEDEN OLDUĞU ENFEKSİYONLAR	15
2.6. TANI YÖNTEMLERİ	16
2.6.1. Fenotipik Yöntemler	16
2.6.1.1. Mikrobiyolojik Kültür Yöntemleri.....	16
2.6.1.2. Biyokimyasal Testler.....	17
2.6.1.3. Otomatize Sistemler	17
2.6.2. Genotipik Yöntemler.....	19
2.7. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ.....	20
2.7.1. Dilüsyon Temelli Testler.....	21
2.7.2. Difüzyon Temelli Testler	22
2.7.3. Otomatize Sistemler	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. <i>BURKHOLDERIA CEPACIA</i> KOMPLEKS İZOLATLARININ LABORATUVARDA ÜRETİLMESİ VE SAKLANMASI	24
3.2. İZOLATLARIN MALDI-TOF MS İLE TANIMLANMASI.....	25
3.3. İZOLATLARIN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE TANIMLANMASI	26
3.3.1. Kromozomal DNA izolasyonu.....	26
3.3.2. Kullanılan Primerler ve PZR Protokolü	27
3.3.3. Agaroz Jel Elektroforezi.....	29
3.4. İZOLATLARIN DİSK DİFÜZYON VE E-TEST YÖNTEMLERİ İLE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ.....	29
3.5. İZOLATLARIN SIVI MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ.....	30
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	32
4. BULGULAR.....	33
5. TARTIŞMA	41

6. SONUÇLAR.....	48
7. KAYNAKLAR	49
8. ÖZGEÇMİŞ	68
9. EKLER.....	69



KISALTMALAR

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

AdhA : Adezin A

ADT: Antibiyotik duyarlılık testi

ATCC : American Type Culture Collection

BCC : *Burkholderia cepacia* kompleks

BCSA : *Burkholderia cepacia* selektif agar

CAZ : Seftazidim

CblA : Kablo pili

CFU : Koloni oluşturan birimler (Coloni-Forming Units)

CHCA : α -Siyano-4-Hidroksisinnamik Asit

CLSI : Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical & Laboratory Standards Institute)

CO₂ : Karbondioksit

COVID-19 : Yeni Koronavirüs Hastalığı

DNA : Deoksiribonükleik asit

EDTA : Etilendiamintetraasetik asit

EMB : Eozin metilen mavisi

E-TEST : Epsilometer test

EUCAST : Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)

FA : Formik asit çözeltisi

GN-ID : Gram negatif tanımlama kartı

H₂S : Hidrojen sülfür

I : Orta duyarlı

kDA : Kilodalton

LB : - Luria–Bertani sıvı besiyeri

LEV : Levofloksasin

LPS : Lipopolisakkarit

MALDI-TOF MS : Matris destekli lazer desorpsiyon / iyonizasyon - uçuş süresi kütle spektrometrisi (Matriks assisted laser desorption ionization time of flight massspectrometry)

MEM : Meropenem
MIN : Minosiklin
MİK : Minimum inhibitör konsantrasyon
µg : Mikrogram
µl : Mikrolitre
ml : Mililitre
MLSA : Multilokus sekans analizi
NaCl : Sodyum klorür
OFPBL : Oksidasyon-fermantasyon temelli polimiksin basitrasin laktoz agar
PCA : *Pseudomonas cepacia* agar
PCAT : *Pseudomonas cepacia*, azelaik asit, triptamin besiyeri
PFGE : Darbeli alan jel elektroforezi (Pulsed-field gel electrophoresis)
PZR : Polimeraz zincir reaksiyonu
R : Dirençli
RND : Direnç nodülasyon hücre bölünmesi (Resistance nodulation cell division)
rpm : Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per minute)
rRNA : Ribozomal ribonükleik asit
S : Duyarlı
SDS : Sodyum dodesil sülfat
SMD : Sıvı mikrodilüsyon
SXT : Trimetoprim-sülfametoksazol
TAA : Trimerik ototransporter adezin
TAK : Trakeal aspirat kültürü
TCC : Tikarsilin-klavulanik asit
TE : Tris-EDTA tamponu
TLR : Toll like reseptör
TRİS : Tris (Hidroksimetil) Aminometan

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. <i>Burkholderia cepacia</i> kompleks türlerinin genel biyokimyasal özellikleri ..	4
Tablo 2. <i>Burkholderia cepacia</i> kompleks içinde yer alan türler	6
Tablo 3. PZR deneyinde kullanılan hedef gen bölgesi ve oligonükleotid primerleri	27
Tablo 4. PZR reaksiyon içeriği.....	28
Tablo 5. PZR protokolü koşulları.....	28
Tablo 6. İzolatların tanımlama sonuçları.....	33
Tablo 7. Tanımlama çalışmasına ait sayısal veriler ve yöntemlerin karşılaştırılması	36
Tablo 8. Hastalara ait demografik veriler ve bazı klinik özelliklerin dağılımı	37
Tablo 9. Çalışılan izolatların antibiyotik duyarlılıkları değerlendirilmesi	39
Tablo 10. Çalışılan izolatların MİK aralıkları, MİK 50 ve MİK 90 değerleri	40

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Çalışmadan bazı izolatların agaroz jel elektroforezindeki görünüşleri..... 35



ÖZET

Amaç: *Burkholderia cepacia* kompleks türleri özellikle kistik fibrozis ve kronik granümatöz hastalığı olan bireylerde ağır enfeksiyonlara neden olan, hastanede yatan ve bağışıklığı baskılanmış kişilerde yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden fırsatçı bir patojendir. *Burkholderia cepacia* kompleks türlerini tanımlamada biyokimyasal ve fenotipik yöntemler kullanılsa da bu yöntemlerin tür düzeyinde tanımlamaları her zaman doğru olmamaktadır. Bu mikroorganizma grubu çeşitli virülans ve adaptasyon mekanizmaları ile antibiyotik direnci geliştirebilmektedir. Tanımlamada yaşanan zorluklar ve birçok antibiyotiğe doğal direncinin bulunması, klinik ve laboratuvar yönetimini zorlaştırmaktadır. Bu amaçla, *Burkholderia cepacia* kompleks grubu mikroorganizmaların biyokimyasal, otomatize ve moleküler yöntemlerle tanımlanması ve farklı yöntemlerle antibiyotik duyarlılıkları belirlenerek mikrobiyolojik tanısının konması ve antimikrobiyal duyarlılığının belirlenmesi için en ideal yöntemlerin ortaya konması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde tanı ve tedavi amacıyla izlenen hastaların Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli örneklerinden son 3 yıl içinde (2020 – 2023) izole edilen 55 adet *Burkholderia cepacia* kompleks bakteri grubu kullanıldı. VITEK® 2 Compact (BioMerieux, Fransa) otomatize sistemi ile tanımlanan *Burkholderia cepacia* kompleks izolatları çalışma yapılacak zamana kadar -80°C'de stoklandı. Bu mikroorganizmaların tanımlanması için MALDI-TOF MS (EXS 2600, Zymbio, Çin) ve moleküler yöntemler kullanıldı. Antibiyotik duyarlılık testleri sıvı mikrodilüsyon, disk difüzyon ve E-Test yöntemleriyle yapıldı. Duyarlılık sonuçları CLSI (M100-E33, 2023) rehberine göre değerlendirildi. İzole edilen mikroorganizmaların ait oldukları hasta bilgileri hastane bilgi sisteminden elde edildi.

Bulgular: Bu çalışmada, 55 klinik örnekten izole edilen *Burkholderia cepacia* kompleks izolatlarının tanımlamasında PZR yöntemi altın standart olarak kabul edilmiştir. MALDI-TOF MS yöntemiyle 42 (%76.4) izolat *B. cepacia*, 2 (%3.6) izolat *B. cenocepacia* ve 9 (%16.4) izolat *S. maltophilia* olarak tanımlanmış, 2 (%3.6) izolat tanımlanamamıştır. PZR yöntemiyle yapılan analizlerde ise, 48 (%87.3) izolat *recA* geni pozitif bulunmuş, 7 (%12.7) izolat negatif sonuç vermiştir.

Tüm izolatlar minosiklin, levofloksasin ve trimetoprim-sülfametoksazol antibiyotiklerine duyarlı bulunmuştur. Ancak, seftazidim ve meropenem antibiyotiklerine karşı direnç oranları farklılık göstermiştir. En yüksek direnç oranları tikarsilin-klavulanik asit için gözlenmiştir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile izolatların %91.7'si (44 izolat) seftazidime duyarlı, %87.5'i (42 izolat) meropeneme duyarlı bulunmuştur. Tikarsilin-klavulanik asit antibiyotiğine karşı E-Test yöntemiyle izolatların %16.7'si duyarlı (8 izolat) bulunurken, sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle %6.3'ü duyarlı (3 izolat) saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışmanın bulguları, *Burkholderia cepacia* kompleksinin yüksek doğal antibiyotik direncine sahip olmasının klinik önemini vurgulamaktadır. Ayrıca, kullanılan tanımlama yöntemleri arasındaki tutarsızlıklar, doğru tanı ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde önemli zorluklar yaratabileceğini göstermiştir. Çalışmada antibiyotik duyarlılık testleri arasında belirgin farklılıklar gözlemlenmemiştir. Literatürde bu konuda çeşitli farklılıklar rapor edilmiştir. Bu durum, klinik pratiğe yönelik daha tutarlı ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesinin önemini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, *Burkholderia cepacia* kompleksi, Mikrobiyal tanımlama yöntemleri

ABSTRACT

Objective: *Burkholderia cepacia* complex species is an opportunistic pathogen that causes severe infections especially in individuals with cystic fibrosis and chronic granulomatous disease, with high morbidity and mortality in hospitalised and immunocompromised individuals. Although biochemical and phenotypic methods are used to identify *Burkholderia cepacia* complex species, these methods are not always accurate at the species level. This group of microorganisms can develop antibiotic resistance through various virulence and adaptation mechanisms. Difficulties in identification and the presence of natural resistance to many antibiotics make clinical and laboratory management difficult. For this purpose, it was aimed to identify *Burkholderia cepacia* complex group microorganisms by biochemical, automated and molecular methods and to determine their antibiotic susceptibilities by different methods and to reveal the most ideal methods for microbiological diagnosis and determination of antimicrobial susceptibility.

Materials and Methods: A total of 55 *Burkholderia cepacia* complex bacterial groups isolated in the last 3 years (2020 - 2023) from various samples of patients followed up for diagnosis and treatment sent to the Microbiology Laboratory (Recep Tayyip Erdoğan University Faculty of Medicine Training and Research Hospital) were used. *Burkholderia cepacia* complex isolates identified by VITEK® 2 Compact (BioMerieux, France) automated system were stored at -80°C until the time of the study. MALDI-TOF MS (EXS 2600, Zybion, China) and molecular methods were used for the identification of these microorganisms. Antibiotic susceptibility tests were performed by the liquid microdilution, disc diffusion and E-Test methods. Susceptibility results were evaluated according to CLSI (M100-E33, 2023) guidelines. Patient information of the isolated microorganisms was obtained from the hospital information system.

Results: In this study, the PCR method was considered as the gold standard for the identification of *Burkholderia cepacia* complex isolates isolated from 55 clinical samples. By MALDI-TOF MS method, 42 (76.4%) isolates were identified as *B. cepacia*, 2 (3.6%) as *B. cenocepacia* and 9 (16.4%) as *S. maltophilia*, while 2 (3.6%)

isolates could not be identified. In the analyses performed by PCR method, 48 (87.3%) isolates were positive for *recA* gene and 7 (12.7%) isolates were negative.

All isolates were susceptible to minocycline, levofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole antibiotics. However, resistance rates to ceftazidime and meropenem antibiotics differed. The highest resistance rates were observed for ticarcillin-clavulanic acid. By the liquid microdilution method, 91.7% (44 isolates) of the isolates were susceptible to ceftazidime and 87.5% (42 isolates) were susceptible to meropenem. While 16.7% (8 isolates) of the isolates were susceptible to ticarcillin-clavulanic acid antibiotic by E-Test method, 6.3% (3 isolates) were susceptible by liquid microdilution method.

Conclusion: The findings of this study emphasise the clinical significance of the high natural antibiotic resistance of the *Burkholderia cepacia* complex. Furthermore, inconsistencies between the identification methods used showed that it may create significant difficulties in the development of accurate diagnostic and therapeutic strategies. In this study, no significant differences were observed between antibiotic susceptibility tests. Various differences have been reported in the literature in this regard. This situation shows the importance of developing more consistent and reliable methods for clinical practice.

Keywords: Antibiotic resistance, *Burkholderia cepacia* complex, Microbial identification methods

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Burkholderia cinsi bakteriler farklı çevresel ortamlarda yaygın olarak bulunan yüzün üzerinde türden oluşmaktadır (1). Bu mikroorganizma grubu immünsüpre hastalarda ciddi mortalite ve morbidite sebebi olabilmektedir. Kistik fibrozis ve kronik granülomatöz hastalığı olan kişilerde kolonizasyona ve enfeksiyona neden olarak solunum sistemi bozukluğu ve bakteriyemi gibi kötü prognozlu tablolara yol açmaktadır. Özellikle kistik fibrozis hastalarında başlıca *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* ve *Burkholderia cepacia* kompleks gibi patojenik etkenler geri dönüşsüz enfeksiyonlara neden olmaktadır ancak *Burkholderia cepacia* kompleks (BCC) grubunu diğer mikroorganizmalardan ayıran özellik akciğer dışı dokulara yayılımla birlikte klinikte akut kötüleşmeye daha fazla yol açmasıdır (2,3).

Burkholderia cepacia kompleks grubu intravenöz sıvılar, tıbbi cihazlar ve cilt dezenfektanlarında yaşayabilme veya kolonize olabilme özelliği sayesinde nozokomiyal enfeksiyonlara neden olabilmektedir (4). Nozokomiyal enfeksiyonlar dışında solunum sistemi enfeksiyonu, bakteriyemi, peritonit, üriner sistem enfeksiyonu, deri ve yumuşak doku enfeksiyonu şeklinde de karşımıza çıkmaktadır (5,6). *Burkholderia cepacia* kompleksinin geniş antibiyotik direnci ve kolonize olduğu hastalardaki geri dönüşsüz enfeksiyona neden olma potansiyeli nedeni ile bu mikroorganizmanın klinik yönetiminde antibiyoterapi dışında bireyler arası temas ile bulaşın engellenmesinin önemi büyüktür (7).

Hastalığa en sık neden olan tür ve bu türlerin antibiyotik duyarlılığı bölgeler arası farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle tür düzeyinde doğru tanımlama ve antibiyotik duyarlılık profilinin belirlenmesi, durumu kritik hastalarda önem arz etmektedir (8). Bu mikroorganizma grubunu tanımlamak için kullanılan çeşitli biyokimyasal ve fenotipik yöntemler bulunmaktadır. Ancak bu yöntemlerin tür düzeyinde tanımlamaları her zaman doğru olmamaktadır (9). *Burkholderia* türleri aminoglikozidler, sefalosporinler, antipsödomonal penisilinler ve polimiksinler gibi antibiyotiklere intrensek olarak direnç göstermektedir (10). *Burkholderia cepacia* kompleks türlerinin ortaya çıkardığı enfeksiyonların tedavisinde standart bir tedavi rejimi bulunmamaktadır. Bunun nedenleri arasında; antibiyotik duyarlılık

sonuçlarının *in vivo* ve *in vitro* uyumsuzlukları, rehberler arasındaki duyarlılık parametrelerindeki korelasyon eksiklikleri, tedavi sürecinde gelişen ilaç direnci ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde kullanılan yöntemler arasındaki sonuç farklılıkları yer almaktadır (11,12).

Bu alışmada *Burkholderia cepacia* kompleks grubu mikroorganizmaların biyokimyasal, otomatize ve moleküler yöntemlerle tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının dilüsyonel ve difüzyonel yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. GENEL MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLER

Burkholderia türleri ilk olarak 1950 yılında Burkholder tarafından çürümüş soğan kabuğundan izole edilmiş ve 1980'li yıllara kadar sadece bitki patojeni olduğu düşünülmüştür (13). Aynı zamanda bu türler antifungal ve antinematodal aktiviteleri sayesinde bitkilerle simbiyotik ilişki içinde yaşayabilirler (14). Bununla birlikte *Burkholderia cepacia* kompleks grubu üyeleri hastane ortamı, tıbbi cihazlar, dezenfektanlar, su, toprak ve çeşitli bitkiler başta olmak üzere doğada hemen her yerde bulunabilirler (15).

Burkholderia türlerinin 1970-80 yıllarında iki hastadan izole edilmesi sonrasında insanlarda patojen, bitkilerde ise hem patojen hem de yararlı etkileri ortaya konmuş ve çok yönlülüğü anlaşılmıştır (14).

Metabolik aktivite için karbon ve nitrojen başta olmak üzere çeşitli besin maddelerini enerji kaynağı olarak kullanabilen bu grup 1,6-3,2 µm uzunluğunda, aerobik, kamçılı, Gram-negatif bir basil olarak Burkholder tarafından tanımlamıştır (15,16). Tablo 1'de *Burkholderia cepacia* kompleks türlerinin diğer biyokimyasal özellikleri sunulmuştur (4,17–19).

Burkholderia cepacia kompleks türleri rutin olarak kullanılan koyun kanlı agar, MacConkey agar, çikolata agar, eozin metilen mavisi (EMB) agar gibi besiyerlerinde ve türe özgü *Burkholderia cepacia* selektif agar (BCSA), *Pseudomonas cepacia* agar (PCA), oksidasyon-fermantasyon temelli polimiksin basitrasın laktoz agar (OFPBL) gibi besiyerinde kolaylıkla üreyebilmektedir. Koloni görünimleri genellikle benekli, kabarık, opak ve yumuşaktır (20).

Burkholderia cepacia kompleks grubu içindeki mikroorganizmaların DNA-DNA hibridizasyon oranları %30-60 gibi değişken değerlere sahip olsa da bu mikroorganizmalar %97.7 gibi yüksek oranda 16S rRNA gen dizisi benzerliğine sahiptirler (21).

Tablo 1. *Burkholderia cepacia* kompleks türlerinin genel biyokimyasal özellikleri

Özellikler	Varlığı	Özellikler	Varlığı
Katalaz	+	Kamçı	+
Sitrat	+	BCSA'da üreme	+
Bakteriyosin	+	Besiyerinde hemoliz yapma	-
Üreaz	+/-	Arjinin dehidrolaz	-
Oksidaz	+(zayıf)	Ornitin dekarboksilaz	-
DNAz	-	Lizin dekarboksilaz	+
İndol	-	Jelatin hidrolizi	+/-
42°C'de üreme	-/+	Eskülin hidrolizi	+/-
H ₂ S	-	Glikoz fermantasyonu	-
Spor oluşturma	-	Laktoz fermantasyonu	-
Kapsül	+	Nitratı nitrite indirgeme	-

+: İzolatların %85'inden fazlası pozitif, -: İzolatların %85'inden fazlası negatif,
+/-: İzolatların %50-85'i pozitif, -/+ : İzolatların %50-85'i negatif,
BCSA: *Burkholderia cepacia* selektif agar, H₂S: Hidrojen sülfür.

2.2. TAKSONOMİ

Etkeni 1950 yılında ilk kez izole eden Burkholder, bu etkenin mantar ve *Pseudomonas* türlerinden farklı olarak kokulu, sarı bir görünüme sahip olduğunu fark etmiştir (15). Bu etkenden *Pseudomonas multivorans*, *Pseudomonas kingii* ve *Pseudomonas cepacia* olarak bahsedilmiştir. 1970'li yıllarda yapılan çalışmalarda ortak çevresel dağılımlarının, biyokimyasal özelliklerinin ve benzer genetik yapılarının ortaya konmasının ardından bu türlere *Pseudomonas cepacia* adı verilmiştir (13,22,23).

1900'lü yılların sonuna kadar *Pseudomonas cepacia* ile yakın ilişkili yeni türler tanımlanmış ve 1992 yılında Yabuuchi ile arkadaşları yeni tanımlanan ve *Pseudomonas* rRNA homoloji grubu II içinde yer alan yedi mikroorganizmayı yeni bir cins adı altında toplamayı önermişlerdir. Bunun sonucunda 16S rRNA dizileri,

DNA-DNA homoloji değerleri, fenotipik özellikleri, hücresel lipid ve yağ asidi kompozisyonlarına dayanarak *Burkholderia* adı altında yeni bir cins oluşturulmuş ve *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia caryophylli*, *Burkholderia gladioli*, *Burkholderia pickettii* ve *Burkholderia solanacearum* bu cinse dahil edilmiştir (24).

Burkholderia cinsinin oluşturulmasından sonra tanımlanan yeni türlerde doğal ortam ve genotipik farklılıklar gözlemlenmesine rağmen çeşitli tanımlama yöntemleri kullanılarak bu türler *Burkholderia cepacia* olarak gruplandırılmıştır (25). *Burkholderia* türleri arasında görülen bu farklılıklar doğru tanımlamada sorunlar ortaya çıkarmıştır. Kullanılan tekniklerin değerlendirilmesi ve doğru tanımlama şemalarının oluşturulması için Vandamme ve arkadaşları bu konuda çalışmalara başlamıştır. 1997 yılına gelindiğinde fenotipik olarak benzer ancak genotipik farklılıklar içeren 5 farklı genomovar oluşturulmuş ve *Burkholderia cepacia* kompleks adı verilen mikroorganizma grubu ortaya çıkmıştır (10,21). Son yıllarda yapılan çalışmalarla dört yeni genomovar eklenmesi ile genomovar sayısı dokuza ulaşmıştır (26–28).

Burkholderia cepacia kompleks içindeki genomovarlar; *Burkholderia cepacia* (genomovar I), *Burkholderia multivorans* (genomovar II), *Burkholderia cenocepacia* (genomovar III), *Burkholderia stabilis* (genomovar IV), *Burkholderia vietnamiensis* (genomovar V), *Burkholderia dolosa* (genomovar VI), *Burkholderia ambifaria* (genomovar VII), *Burkholderia anthina* (genomovar VIII), *Burkholderia pyrrocinia* (genomovar IX) şeklinde sıralanabilir (29).

Burkholderia cinsi *Betaproteobacteria* sınıfı içinde *Burkholderiaceae* ailesi alt bölümüne aittir. *Burkholderia* cinsi ilk tanımlanmasından bu yana taksonomisi önemli değişikliklere uğramış ve řu anda *Burkholderia cepacia* kompleks içinde tanımlanmış 29 tür bulunmaktadır. Bu trler Tablo 2.'de gsterilmiştir (30).

Tablo 2. *Burkholderia cepacia* kompleks içinde yer alan türler

1. <i>Burkholderia cepacia</i>	2. <i>Burkholderia cenocepacia</i>
3. <i>Burkholderia pyrrocinia</i>	4. <i>Burkholderia vietnamiensis</i>
5. <i>Burkholderia multivorans</i>	6. <i>Burkholderia stabilis</i>
7. <i>Burkholderia ubonensis</i>	8. <i>Burkholderia ambifaria</i>
9. <i>Burkholderia dolosa</i>	10. <i>Burkholderia anthina</i>
11. <i>Burkholderia cf. cepacia</i>	12. <i>Burkholderia lata</i>
13. <i>Burkholderia latens</i>	14. <i>Burkholderia contaminans</i>
15. <i>Burkholderia metallica</i>	16. <i>Burkholderia arboris</i>
17. <i>Burkholderia seminalis</i>	18. <i>Burkholderia diffusa</i>
19. <i>Burkholderia caterinensis</i>	20. <i>Burkholderia pseudomultivorans</i>
21. <i>Burkholderia stagnalis</i>	22. <i>Burkholderia territorii</i>
23. <i>Burkholderia paludis</i>	24. <i>Burkholderia puraquae</i>
25. <i>Burkholderia aenigmatica</i>	26. <i>Burkholderia sola</i>
27. <i>Burkholderia semiarida</i>	28. <i>Burkholderia orbicola</i>
29. Unclassified <i>Burkholderia cepacia</i> kompleks	

2.3. EPİDEMİYOLOJİ

Burkholderia cepacia kompleks türleri minimum besin gereksinimi özelliği ile doğada yaygın olarak bulunmakta ve suda, toprakta ve nemli yüzeylerde çok uzun süreler canlı kaldıkları için bu ortamlardan sıklıkla ve kolaylıkla izole edilmektedirler (31). Aynı zamanda bu mikroorganizma grubunun hastane cihazları, tıbbi solüsyonlar ve dezenfektanlar gibi kritik malzemeleri kontamine edebilmesi yeteneği bağışıklığı baskılanmış, kronik akciğer hastalığı gibi kritik hastalığa sahip kişilerin bulunduğu hastane servisleri ve yoğun bakım ünitelerinde klinik önemi ön plana çıkmaktadır (29).

Son dönemde bildirimi yapılan salgınlar arasında 2018 yılında ABD'nin farklı eyaletlerindeki farklı hastanelerde 5 aylık süreçte 60 hastanın BCC ile enfekte olduğu ve geriye dönük araştırmalar ile yapılan darbeli alan jel elektroforezi (PFGE) çalışmaları sonucunda izolatların ortak kökenli olduğu ve durulama gerektirmeyen temizleme solüsyonundan kaynaklandığı ortaya çıkmıştır (32).

Haziran-Temmuz 2018 yılında ABD'deki bir acil serviste intravenöz kateterizasyon için kullanılan ultrason jelinden kaynaklı 3 kişide bakteriyemi gelişmiş ve BCC türlerinin kontamine cihazlar ve malzemelerle ilişkili salgınlara neden olabileceği vurgulanmıştır (33).

Almanya'da 2018 yılında çeşitli hastanelerde çok sayıda BCC'ye bağlı pnömoni olgusu ortaya çıkmış ve yapılan araştırmalar neticesinde tüm genom dizileme ve PFGE yöntemleri ile etkenin kontamine ağız gargara solüsyonundan bulaştığı ortaya konmuş ve çevre ülkeleri de etkileyebilmiş olabileceği üzerinde durulan geniş ölçekte bir nozokomiyal salgın raporlanmıştır (34).

Ülkemizde ise 2019 yılında bir pediatri bölümünde 6 hastada BCC kaynaklı bakteriyemi gelişimiyle ve solunum desteğine gereksinim ile sonuçlanan bir salgın gerçekleşmiş ancak bu salgında kaynak bulunamamıştır (35).

Türkiye'de 2019 yılında bir yoğun bakım ünitesinde gerçekleşen BCC salgınında yapılan çalışmalarla PFGE ile kaynağın kontamine klorheksidinli ağız gargara çözeltisi olduğunun anlaşıldığı ve altı hastanın etkilenecek bu hastaların beşinin ölümü ile sonuçlanan bir nozokomiyal salgın bildirilmiştir (36).

Avrupa ve ABD ülkelerindeki kistik fibrozis merkezlerinin yaygınlaştırılması ve vaka bulaşını önlemeye yönelik alınan tedbirler sayesinde kistik fibrozis hastalarında BCC türlerinin neden olduğu kronik enfeksiyonların prevalansı %3 düzeyine indirilmiştir. Avrupa Kistik Fibrozis Derneği hasta kayıtları verilerinde belirtildiği üzere erişkin kronik BCC enfeksiyon prevalansı Almanya, İrlanda, İtalya, Hollanda gibi ülkelerde %1-3, İspanya, Portekiz ve Rusya'da %6-8 olarak belirtilmiştir. Ülkemizde ise bu oran %0.3 olarak belirtilmiştir. Aynı zamanda Türkiye'deki tüm nozokomiyal enfeksiyonların %0.2'si BCC türleri ile oluşmaktadır (37).

Burkholderia cepacia kompleks türlerinin asıl olarak kronik hastalığı olan kişilerde enfeksiyona neden olduğu biliniyor olsa da sağlıklı kişilerde kolonizasyon ve nadir enfeksiyonlar şeklinde görülebileceği akılda tutulmalıdır (38).

Enfeksiyona neden olan izolatların %20'den fazlasının çevresel izolatlarla genomik benzerliğinin bulunması, ev bitkilerinde dahi izole edilebilmesi, temel dezenfektanlara dirençli olması ve çeşitli malzemeleri kontamine edebilmesi nedeniyle bu grup mikroorganizmaların gizli bir halk sağlığı sorunu olduğunu unutmamak gerekmektedir.

2.4. PATOGENEZ

Burkholderia cepacia kompleks türleri tek hücreli canlılardan insanlara kadar değişen büyük bir popülasyonda geniş bir yelpazede enfeksiyona neden olabilmektedir. Soğan çürümeye neden olma özelliği bu mikroorganizmaların ilk tanımlanmasından itibaren karakteristik özelliği gibi görünse de bu özellik tek bir izolat veya türe özgü olmamakla birlikte *Burkholderia cepacia* kompleks türleri çoğunlukla bitkilerle kommensal bir ilişki içinde yaşamaktadır (39). BCC türlerinin immünsüprese hastalar dışında kistik fibrozis gibi immün defekt bulunmayan hastaların akciğerlerinde kolonize olabilmesi ve oluşturduğu enfeksiyonun agresif seyirli olması bu mikroorganizma grubunun patogeneğinde virülans faktörlerinin ve patojen-konak ilişkisinin incelenmesi üzerinde araştırmalar yapılmasına yönlendirmiştir (8). BCC türlerinin virülans ve patojenitesi üzerine birçok çalışma yapılmış olsa da bu türlerin en dikkat çekici virülans faktörleri hücre yüzeyi elemanları olarak belirtilmiştir. BCC türlerinin enfeksiyon sürecinde konağa ve mikroorganizmaya ait birçok faktör rol oynadığı için çoğu virülans faktörlerinin enfeksiyon sürecindeki etkisi tam olarak belirlenememiştir (40).

Burkholderia cepacia kompleks türlerinin patojenik özelliklerini antimikrobiyal direnç, kolonizasyon faktörleri, hücre yüzey özellikleri, protein sekresyon sistemleri altında toplanabilir (39).

2.4.1. Antimikrobiyal Direnç

Çoklu antibiyotik direnci, son yıllarda popüler olan *Staphylococcus*, *Enterococcus* ve *Pseudomonas* gibi fırsatçı enfeksiyon ajanlarında görülen ortak özellik olarak karşımıza çıkmaktadır. *Burkholderia cepacia* kompleks türlerinde de çoklu antibiyotik direnci saptanmakla birlikte özellikle klinik kullanımı yüksek olan aminoglikozidler, beta-laktam grubu içeren ve polimiksinler gibi çeşitli antibiyotik gruplarına içsel dirençli olarak karşımıza çıkmaktadır (41).

Burkholderia cepacia kompleksinin farklı türleri arasındaki antibiyotik direnç profillerinde önemli farklılıklar görülmemiştir. Bu türlerin oluşturduğu enfeksiyon tedavisi sırasında yüksek düzeyde direnç geliştirebilme özellikleri hem tedavi seçeneklerini kısıtlamakta hem de bireysel izolatlar arasında çeşitli direnç profilleri göstermesine sebep olmaktadır (40).

2.4.1.1. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

Burkholderia cepacia kompleks türleri tarafından kodlanan PenB ve PenR olarak adlandırılan A sınıfı β -laktamaz aktivitesine sahip enzimler sayesinde seftazidim başta olmak üzere β -laktam sınıfı antibiyotiklere dirençli hale gelmektedir. Aynı zamanda PenB geniş spektrumlu karbapenemaz aktivitesi ile meropenem direnci gösterebilmektedirler (42).

Eflüks pompaları *Burkholderia cepacia* kompleks türlerinin antibiyotik direncine katkı sağlayan bir başka mekanizma olarak karşımıza çıkmaktadır ve direnç nodülasyon hücre bölünmesi (resistance nodulation cell division-RND) ailesine ait altı tip eflüks pompası bu sisteme katılmaktadır. Bu sistemi eksprese eden BCC türlerinde aminoglikozidler, kloramfenikol, florokinolonlar ve tetrasiklinler gibi çeşitli ve çok sayıda antibiyotiğe direnç oluşumuna katkı sağlamaktadır (43).

Burkholderia cepacia kompleks türleri kullandıkları çeşitli yöntemlerle dış membran geçirgenliğini azaltarak antibiyotiklere direnç kazabilirler. Hücre membran yapısındaki lipopolisakkarit (LPS) içerisinde yer alan lipid A komponentinin modifikasyonu sonucunda total LPS molekül yükünü değiştirerek özellikle katyonik antimikrobiyal peptit ve polimiksinlere karşı duyarlılığın azaldığı saptanmıştır (44). Sitoplazma zarının stabilitesini sağlayan haponoid bileşiklerin üretimi sırasında gerçekleşen gen regülasyonları sonucunda da membran geçirgenliği azalarak

özellikle kolistine karşı direnç görülmesine katkı sağlamaktadır (45). Porin geçirgenliğinin azaltılmasıyla ortaya çıkan azalmış antibiyotik duyarlılığı BCC türlerinde de gösterilmiş olup bu etki *Escherichia coli* türlerindeki porinlere kıyasla on kat daha az geçirgenlik göstermektedir (46).

İlaç hedefindeki modifikasyonlar sayesinde BCC türleri özellikle florokinolonlara dirençli hale gelmektedir. Bu modifikasyonlar içinde en öne çıkan *gyrA* gen mutasyonu minimal inhibitör konsantrasyonunda (MİK) 12-64 kat artışa neden olup florokinolon direnci gösteren BCC türlerinin çoğunda saptanmıştır (47). İlaç hedefi olan dihidrofolat redüktaz enziminin modifikasyonunda BCC türlerinin trimetoprim direncine katkı sağladığı gösterilmiştir (48).

Bu antibiyotik dirençleri dışında özellikle klorheksidine karşı dirençli oluşu bu türlerin dezenfektanları kontamine etmesine ve dezenfektanlarla temizliği yapılan nebulizatörler gibi terapötik cihazların kontaminasyonuna yol açmakta ve hayatta kalma stratejileri sayesinde bu mikroorganizma grubu birçok hastane salgınında rol oynamaktadır (49).

Çoklu antibiyotik direnci, çoklu ilaç akış sistemleri ve lipopolisakkaritlerin rol oynadığı hücre zarı geçirgenliğinin azaltılmasına bağlanabilir (40).

2.4.2. Kolonizasyon Faktörleri

Diğer solunum yolu patojenleri gibi *Burkholderia cepacia* kompleks türlerinin de önce üst ardından alt solunum yollarında çeşitli faktörler yardımıyla kolonize olması enfeksiyonun başlaması için önem arz etmektedir.

Kronik hastalığın başlamasında gerekli olan çeşitli kolonizasyon faktörlerinin başında hareket kabiliyeti, hücrelere ve yüzeylere yapışma yeteneği, doku hasarı ve biyofilm oluşumu gelmektedir (39).

2.4.2.1. Flagella

Flagella protein miktarına göre iki tip olarak sınıflandırılan, hareketten sorumlu, kutupsal yerleşim gösteren ve antijenik özelliğe sahip hücresel elemandır (20). Flagellanın bölgeler ve organlar arası yayılmaya neden olan hareket sağlama özelliği dışında epitelial hücrelerin istilası, biyofilm oluşumu ve inflamatuvar süreçlerin tetiklenmesi gibi etkileri de mevcuttur. Flagellanın antijenik özelliği

sayesinde toll-like reseptör (TLR) ailesine ait reseptörlerle tanınması sonucu doğal immün yanıt uyarılır ve artan IL-8 üretimi ile proinflatuar süreçler hızlandırılarak özellikle akciğer enfeksiyonuna neden olan hastalarda hasarı arttırmaktadır (50).

Ancak flagellaların enfeksiyon süreci boyunca patogenezdaki rolleri değişken olup özellikle akut enfeksiyonlarda aktif rol alarak kronik enfeksiyon sürecinde enfekte materyallerdeki izolatlar incelendiğinde bu izolatların flagellalarını kaybettiği saptanmıştır (51). Bu nedenle daha patojen türlerle enfekte olmuş özellikle kistik fibrozis ve kronik granülomatöz akciğer hastalığı bulunan kişilerde enfeksiyona neden olan izolatlar daha yüksek virülansa sahip olarak karşımıza çıkmaktadır (52).

2.4.2.2. Adezyon

Bir bakteri hücresinin tutunma özelliğinde, lipopolisakkarit, hücre dışı polimerik maddeler, fimbria da dahil olmak üzere çok sayıda hücre yüzey molekülünün yer aldığını bilmekteyiz (53). Lipopolisakkarit hücre dışı polimerik maddelere tutunmadan ziyade fiziksel temasla ilişkili yapılar olarak karşımıza çıkmaktadır. *Burkholderia cepacia* kompleks türlerinde tutunmayı sağlayan adezin grubu moleküller tam anlamıyla ortaya konmamış olsa da bu gruptaki başlıca moleküller; kablo pili (cblA), 22-kDa adezin (adhA), peptidoglikan ilişkili lipoprotein, OmpW benzeri proteinler ve bir grup trimerik ototransporter adezin grubu olarak gruplandırılabilir (54).

cblA ve *adhA* geni eksprese eden BCC izolatlarının kronik akciğer hastalığında ekspresyonu artış gösteren sitokeratin 13'e bağlanma yeteneğinden dolayı bu izolatların virülansının daha yüksek olma potansiyeli bulunmaktadır (55).

pal (BCAL3204) geni ürünü olan peptidoglikan ilişkili lipoproteinin hücresel tutunmadaki rolü belirlenmiştir. Aynı zamanda bu molekül diğer birçok patojende bulunan tutunma ile ilişkili molekül olan OmpA ile yüksek benzerlik gösterir ve kronik akciğer hastalığı modellerinde tutunmaya olan etkisi gösterilmiştir (56).

BCC türlerinde tanımlanan hücresel tutunma moleküllerinden en çok çalışılan gruplardan birisi trimerik ototransporter adezin (TAA) sınıfıdır. TAA sınıfı moleküller gram negatif bakterilerde bulunabilen virülansla ilişkili olduğu bilenen hücre dışı membranı uzantılarıdır. Yedi gen tarafından düzenlenen TAA molekülü

tutunma fonksiyonu dışında hücresel istila, bağışıklıktan kaçış, biyofilm yapısına katılma gibi farklı işlevlere sahiptir (57).

2.4.2.3. Doku Hasarı

BCC türleri diğer fırsatçı patojenlerden farklı olarak özellikle akciğer tutulumu sırasında ciddi nekroz, bakteriyemi ve sepsisle karakterize bir tablo ile karşımıza çıkmaktadır. Bu ciddi hasara neden olan mekanizmalar tam olarak anlaşılmamış olsa da immün sistemi baskılanmış ve kronik akciğer hastalığı olan kişilerdeki nötrofillerde oksijen radikallerinin üretimindeki eksiklik nötrofillerin bu mikroorganizmayı fagositte ettikten sonra yok edememesi ve bu hücrelerin tahribatı ile sonuçlanmaktadır. Bu tahribat neticesinde nekrotik nötrofil ölümü gerçekleşmekte ve toksik hücre içi materyal dokulara sızarak daha fazla hasar ve inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır (15).

2.4.2.4. Biyofilm

Biyofilm, bakteri hücreleri için faydalı bir yapı oluşturacak şekilde organize olmuş, hücrelere ait lipit, polisakkarit, protein ve nükleik asit yapılarını ve birbirine bağlı hücre topluluklarını içeren kompleks bir yapı modelidir (58).

BCC türü mikroorganizmalar biyofilmleri sayesinde biyotik ve abiyotik yüzeylere kolayca yapışarak uzun süre hayatta kalabilme özelliğine sahiptir. Aynı zamanda biyofilmleri sayesinde olumsuz çevre şartlarına ve antibiyotiklere de daha dirençli hale gelmektedirler. Antibiyotiklerin biyofilm yapısı içine penetrasyonunun azalması, biyofilme özgü stres yanıtı ve biyofilmin yapısal heterojenitesi biyofilm üreten mikroorganizmaların daha dirençli olmasına katkı sağlamaktadır (59).

BCC türleri tarafından üretilen bir ekzopolisakkarit olan ve biyofilm yapısına katılan cepacian çoğu klinik ve çevresel izolatta bulunmaktadır. Cepacian, BCC türlerinin nötrofiller tarafından fagositte edilmelerini ve nötrofillerde aktif oksijen radikalleri üretimini engelleyerek mikroorganizmaların bulundukları bölgede kolonize olma ve kronik enfeksiyon oluşturma yeteneklerine katkı sağlamaktadır (9,60).

2.4.3. Hücre Yüzey Özellikleri

2.4.3.1. Lipopolisakkarit

Lipopolisakkarit (LPS) gram negatif bakterilerde genel olarak bulunan ve virülansta önemli rol oynayan bir yapı olarak karşımıza çıkmaktadır. Lipopolisakkarit yapısında temel olarak bir iç oligosakkarit, lipid A ve O antijeni yapıları bulunmaktadır (61).

BCC türlerinin sahip olduğu LPS yapısı diğer gram negatif bakterilerin sahip olduğu LPS yapısına göre farklılıklar içermektedir. Bu farklılıklar; O antijeni yapıları içermesi, lipid A kısmının fosfatlarında 4-amino-4-deoxyarabinose kalıntıları bulundurması ve iç oligosakkarit yapısındaki D-gliserol- α -D-talo-oct-2-ulopyranosylonic asit gibi farklı bir heterodimerik disakkarit yapısı bulundurmasıdır. Sahip olduğu bu özellikler sayesinde LPS yapıları hücre yüzeyindeki elektriksel yükü değiştirir ve antibiyotiklerin bağlanmasını engelleyerek bakterinin daha dirençli ve daha virülan olmasına katkı sağlar (62).

2.4.3.2. Demir Alımı

Sideroforlar temelde hücre dışındaki demiri detoksifiye ederek ferrik iyonları şeklinde bağlayan, demir siderofor kompleksi içinde ferrik iyonlarını hücre zarından bakteri hücresi içine taşınmasını sağlayan fonksiyonel alt birimlerden oluşan hücresel elemanlardır (63).

Ornibactin, pyochelin, cepabactin ve cepaciachelin BCC türlerinin ürettiği ve demir alımı için kullandığı başlıca sideroforlardır. Ornibactin BCC türlerindeki en önemli siderofor olarak görülmekle birlikte pyocheline bağlı demir iyonlarının süperoksit ve hidrojen peroksit maruz kalması sonucu hidroksil radikalleri oluşturduğu ve çevre dokularda hasara neden olduğu gösterilmiştir (62).

Sideroforlar dışında BCC üyeleri oksitlenmiş hem kullanarak ve ferritini bir serin proteazla kullanıma uygun hale getirerek demir kaynağı olarak kullanabilmektedir (64).

2.4.3.3. Ekzopolisakkarit

Ekzopolisakkarit üretiminin başlangıçta BCC türlerinde yaygın olmadığı düşünülse de zamanla çoğu klinik ve çevresel izolatta üretiminin olduğu ve özellikle

“cepacian” ekzopolisakkaritinin BCC virölansına önemli katkı sağladığı ortaya çıkmıştır (62).

Ekzopolisakkarit sentezinin biyofilm üreten mikroorganizmalarda biyofilm yapısına katılarak biyofilmin üç boyutlu yapısının korunmasını sağladığı gösterilmiştir. Cepacian varlığında üretilen biyofilmin daha kalın olması, nötrofil fonksiyonu engellemesi, kalıcı enfeksiyon oluşumuna katkı sağlaması, kuru ortamlarda mikroorganizmanın hayatta kalmasına katkı sağlaması ve toksik metal iyonlarına karşı mikroorganizmayı dirençli kılması bu ekzopolisakkaritin önemine işaret etmektedir (65,66).

2.4.4. Protein Sekresyon Sistemleri

Protein sekresyon sistemleri, prokaryotik hücrelerde üretilen proteinlerin hücre sitoplazmasına, hücre çevresine, hücreler arasına veya ökaryotik hücrelere taşınmasını sağlayan özelleşmiş sistematik bir salgı sistemidir.

Protein salgı sistemlerinin bakteri büyümesi ve virölansında önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bakteriler arasında değişkenlik gösteren bu sistemlerin bazıları bakterilerin çoğunda bulunarak genel proteinlerin salgılanmasını yaparken, bazı sistemler ise daha az türde bulunarak bakteriye özgü proteinlerin salgısını gerçekleştirirler. BCC türleri temelde tip I- tip VI olmak üzere altı tip protein salgı sistemi içerirler (67).

Tip I protein salgı sistemleri; BCC türlerinde temelde hemolitik proteinlerin hem iç hem dış zar boyunca taşınmasına olanak sağlamaktadır (68).

Tip II protein salgı sistemleri; özellikle hidrolitik enzimlerin periplazmik boşluğa taşınmasını sağlar. BCC türlerinde çinko metaloproteazların salgılanmasında rol oynamaktadır (68).

Tip III protein salgı sistemleri; bakteriyel flagellum ile ortak bir evrimsel kökene sahip, gram negatif bakterilerin hücre zarına gömülü olarak bulunan ve özellikle ökaryotik hücre içine salgısal proteinlerin enjeksiyonu görevini üstlenen karmaşık makromoleküllerdir. Genellikle patojen türlerde bulunan bu sistem hücre istilası açısından önem arz etmektedir (69).

Tip IV protein salgı sistemleri; sitotoksik proteinlerin hücrelere taşınmasından sorumlu olmasının dışında bir diğer özelliği de nükleik asit taşınmasını sağlayabilmesidir. Aynı zamanda fagosit içinde hayatta kalmasını da sağladığı görülmüştür (68).

Tip V protein salgı sistemleri; virülans faktörlerinin salgılanması ve özellikle tutunma için gereken proteinlerin salgılanmasına aracılık ederken aynı zamanda biyofilm oluşumu içinde gerekli protein salgısını gerçekleştirmektedir (68).

Tip VI protein salgı sistemleri; temelde makrofaj fagosit fonksiyonunun azalmasını sağlamakla birlikte *B. cenocepacia* türlerini fagosit etmiş makrofajlarda fagolizozom oluşumunu engellemektedir (70).

2.5. NEDEN OLDUĞU ENFEKSİYONLAR

BCC türleri en çok kistik fibrozis, bağışıklık sistemi baskılanmış, hastanede yatan ve kronik granülomatöz akciğer hastalığı olan bireylerde enfeksiyona neden olsa da nadiren sağlıklı bireylerde de enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Sağlıklı bireylerde oluşan enfeksiyonlar var olan antibiyotik direncine rağmen düşük morbidite ve mortaliteye sahiptir. Ancak bağışıklık sistemi baskılanmış ve özellikle hücre içi patojenlere yanıt veremeyen hastalarda üriner sistem enfeksiyonu, peritonit, bakteriyemi, sepsis, endoftalmit, yumuşak doku enfeksiyonu, menenjit, osteomyelit, septik artrit, akciğer apsesi ve pnömoni gibi yüksek morbidite ve mortaliteye neden olabilen fırsatçı enfeksiyonlara yol açarlar (14).

Akciğer tutulumu ile giden enfeksiyonlarda nekrotik hücre ölümüne bağlı ciddi doku nekrozu sonucunda yüksek ateş, şiddetli ve ilerleyici nefes darlığı, lökositoz ve yüksek eritrosit sedimentasyonu ile karakterize olan ani ilerleme kaydederek yüksek mortalite oranlarına sahip nekrotizan bir pnömoni tablosu olan ‘Cepacia Sendromu’ görülebilmektedir (39).

BCC türlerinin düşük besin düzeyinde uzun süre yaşayabilme, biyofilm oluşturabilme, abiyotik yüzeylerde yaşayabilme özellikleri ve sahip oldukları içsel antibiyotik direnci sayesinde hastane ortamlarından sıklıkla izole edilebilmekte ve

hastane kaynaklı enfeksiyonlardan özellikle pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu ve bakteriyemi etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır (71).

BCC grubunda bulunan tür sayısının çokluğu ve bu türlerin virülans faktörlerini kullanmadaki yeteneklerinin farklılığı nedeniyle bu grup mikroorganizmaların yaptığı enfeksiyonlar asemptomatik taşıyıcılıktan ciddi morbidite ve mortalite ile sonuçlanan geniş bir yelpazede dağılmaktadır (2).

2.6. TANI YÖNTEMLERİ

BCC türlerinin benzer fenotipik ve biyokimyasal özelliklere sahip olmaları, geniş kapsamlı biyokimyasal testler kullanılmış olsa bile ayırt edilmelerini güçlendirmektedir. Bu mikroorganizmaların tanımlanması rutin klinik laboratuvarlarda genellikle BCC'ye özel seçici besiyerleri, biyokimyasal testler ve otomatize sistemler kullanılarak kombine biçimde yapılmaktadır (17).

Ticari tanımlama sistemleri klinik laboratuvarlarda mikroorganizmaların tanımlanmasını kolaylaştırmıştır. Ancak çoğu ticari test yöntemi BCC türlerini yeterli duyarlılık ve özgüllükte tanımlayamamakta ve özellikle *Ralstonia*, *Achromobacter*, *Comamonas*, *Delftia*, *Pandoraea* ve *Pseudomonas* türleri ve *S. maltophilia* ile ayırt edilmesinde yanlış sonuçlar ortaya çıkmaktadır (72).

BCC türlerinin tanımlanmasında kullanılan yöntemler genotipik ve fenotipik yöntemler olarak iki temel başlık altında incelenebilir.

2.6.1. Fenotipik Yöntemler

2.6.1.1. Mikrobiyolojik Kültür Yöntemleri

Klinik izolatlardan BCC türlerinin identifikasyonunun sağlanması için geliştirilen seçici besiyerleri bulunmaktadır.

Bu besiyerlerinin başında *Pseudomonas cepacia* agar (PCA) 300 U/ml polimiksin B ve 100 mikrogram/ml tikarsilin içermekte, laktoz eklenmiş oksidasyon-fermantasyon agar (OFPBL) 300 µ/ml polimiksin B ve 0.2 U/ml basitrasin içermekte ve *Burkholderia cepacia* selektif agar (BCSA) %1'lik laktoz, %1 sükroz, zenginleştirilmiş kazein, maya ekstraktı, 600 U/ml polimiksin B, 10 µ/ml gentamisin

ve 2.5 µ/ml vankomisin içermekte olup BCC türlerinin tanımlanması için klinik laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (21).

BCSA'nın 72 saatlik inkübasyon sonunda solunum örneklerinden BCC türlerinin izolasyonu ve diğer mikroorganizmaların baskılanması açısından PCA ve OFPBL'den daha üstün olduğu gösterilmiştir. Bu üstünlüğüne rağmen *B. gladioli* ve *Ralstonia spp.* BCSA'da üreyebilmektedir (73).

Bu besiyerlerinin performansı klinik örneklerde nispeten iyi olsa da duyarlılık ve özgüllükleri çevresel örneklerde düşüktür. Bu nedenle çevresel örnekler incelenirken *Pseudomonas cepacia*, azelaik asit, triptamin besiyeri (PCAT) veya glukoz, asparagin, triptan mavisi ve tetrasiklin içeren TB-T besiyeri gibi diğer besiyerlerinin kullanılması daha iyi sonuçların elde edilmesini sağlayacaktır (21).

2.6.1.2. Biyokimyasal Testler

BCC grubu içindeki mikroorganizmaların filogenetik yakınlıkları ve fenotipik benzerliklerinden dolayı ayrımları geniş biyokimyasal test panelleri kullanılarak bile neredeyse mümkün olmamaktadır.

Rutin laboratuvarlarda kullanılmak üzere biyokimyasal testlerin uygulanabilirliğini kolaylaştırmak ve daha güvenilir sonuçlar elde etmek amacıyla ticari biyokimyasal test kitleri geliştirilmiştir. Ancak bu yöntemlerle bile BCC türleri arasındaki farklılıklar ve diğer türlerle benzerlikler nedeni ile ayırım tam olarak yapılamamaktadır (9).

2.6.1.3. Otomatize Sistemler

Klinik laboratuvarlarda yaygın olarak bulunan otomatize sistemlerle de BCC türlerinin tanımlanması yapılmaktadır. BCC içerisinde bulunan ancak daha az görülen çevresel izolatların tanımlanmasında otomatize sistemler yetersiz kalmakta ve referans yöntemlerle tür tayinlerinin yapılması gerekmektedir (74).

Klinik laboratuvarlarda sıklıkla kullanılan VITEK® 2 Compact (BioMerieux, Fransa) otomatize sistemi gram negatif identifikasyonu için içerisinde 64 testin bulunduğu plastik bir kart sistemi kullanmaktadır. Bu testler içinde 18 enzimatik aktivite göstergesi olan 41 biyokimyasal test ve 18 fermantasyon testi bulunmaktadır.

İnkübasyon sonrası sistem tarafından yorumlanan test sonuçlarına göre uygun identifikasyon sağlanmaktadır (75).

BD Phoenix (BD Diagnostics, Sparks, MD) otomatize sisteminde ise farklı substratlar içeren 45 kuyucuk bulunmaktadır. Bunlardan 20 tanesini enzimatik reaksiyon 2 tanesini antibiyotik direnci ve geri kalan kısmını ise farklı karbon kaynaklarının kullanımı oluşturmaktadır. Her iki yönteminde uygun şartlar altında ortalama identifikasyon süresi 3-4 saat arasında değişmektedir (75).

Kullanım kolaylığına rağmen bu yöntemlerden özellikle VITEK® 2 Compact ve BD Phoenix (BD Diagnostics, Sparks, MD) otomatize sistemleri duyarlılık ve özgüllükleri hedeflenen düzeylerin altında kalmakta ve en fazla *S. maltophilia* ve *Ralstonia* türleri ile yanlış tanımlama yapılmaktadır (75).

Phoenix ve VITEK® 2 sistemlerinin kullanıldığı bir çalışmada bu sistemlerin BCC türleri için doğru tanımlama yüzdeleri sırasıyla %50 ve %53 belirlenmiş ancak genomvarlar arasında belirgin farklılıklar olduğu bildirilmiştir (75).

Matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS), laboratuvarlarda kullanılan bir diğer otomatize sistemdir. Bu yöntemin kullanımı ile tanımlama için gereken sürenin kısaltılması ve daha doğru sonuçlar alınması bu sistemin avantajları arasındadır. Bu yöntem kristalize edilmiş bakterinin ışınlanmasıyla oluşan türe özgü protein spektrum profillerini tespit edip referans kütüphanesiyle karşılaştırarak klinik örnekten üretilen mikroorganizmanın identifikasyonunun daha hızlı, uygun maliyetli, daha güvenilir şekilde yapılmasına olanak sağlar (76).

MALDI-TOF MS ile yapılan identifikasyon çalışmalarında BCC için cins düzeyinde tanımlama oranının %97 civarında olduğu belirtilmiştir. Ancak BCC türlerinin tanımlanmasında bu oran düşmektedir. Bunun nedeninin yeni keşfedilen tür sayısının fazlalığı nedeniyle referans spektrumun yetersiz olması ve BCC içerisindeki türlerin yakın fenotiplere sahip olması nedeni ile tanımlanamadığı görüşüne varılmıştır (77).

2.6.2. Genotipik Yöntemler

BCC türü mikroorganizmalar her ne kadar kistik fibrozis hastalarında daha fazla hastalık etkeni olarak karşımıza çıksa da 2000'li yıllardan sonra özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ve sağlıklı bireylerde de fırsatçı enfeksiyonlara neden olabileceğini göstermiştir (78).

Farklı *Burkholderia* türlerinin çeşitli ve ciddi enfeksiyonlara neden olması ve bu enfeksiyonların klinik yönetimlerinin değişkenliliği aynı zamanda BCC içindeki mikroorganizmaların virülans ve antibiyotik duyarlılıklarının farklılıkları nedeni ile doğru tanımlanmaları önem kazanmıştır (79).

Bakteriyel tanı yöntemleri her geçen gün gelişmekte olup klasik tanı yöntemleri dışında otomatize sistemler ve genotipik yöntemler bakterilerin cins ve tür düzeyinde tanımlanmasına olanak sağlamaktadır. Bu yöntemler arasında genotipik yöntemler daha hızlı olmaları, güvenilir sonuç vermeleri ve fenotipik testlerin tür tanımlamasında yetersiz kalmaları nedeni ile ön plana çıkmaktadır ancak uygulama zorluğu ve maliyet sorunu bu yöntemlerin rutin laboratuvarlarda kullanımını kısıtlamaktadır (79).

Bu yöntemler arasında tüm hücre protein elektroforezi, tüm hücre yağ asidi analizi, 16S rRNA gen analizi, 23S rRNA gen analizi, *recA* gen analizi, multilokus sekans analizi, tüm genom dizi analizi gibi yöntemler bulunmaktadır (80).

Tüm hücre protein elektroforezi, standart şartlarda üreyen yakın akraba mikroorganizmaların protein profillerinin benzer olması esasına dayanarak ortaya çıkan bir tanımlama yöntemidir. Bu yöntem sonucu elde edilen sonuçların DNA-DNA hibridizasyon sonuçları ile karşılaştırılması sonucu tanımlama amacı ile birçok tür için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (81). BCC türleri için 1997 yılında yapılan çalışmalarla kullanılabileceği ortaya konsa da son yıllarda BCC türleri ayrımı yapmakta yetersiz kaldığı anlaşılmıştır (21).

Tüm hücre yağ asidi analizi, basit düşük maliyetli ve otomatize bir sistem olması nedeniyle klinik izolatların hızlı tanımlanması için kullanılan bir yöntemdir ve bu yöntemle *Burkholderia* cinsi düzeyinde doğru tanımlama yapılabilse de tür düzeyinde tanımlama yapabilmek için ek yöntem ihtiyacı olması bu yöntemin kullanılabilişliğini kısıtlamaktadır (21).

16S rRNA ve 23S rRNA genleri, BCC grubu mikroorganizmalarda %98'e varan benzerlik göstermektedir ancak tür içi farklılıklar bu yöntemle tür düzeyinde tanımlamalarını sorunlu hale getirmektedir. BCC türleri içinde bu yöntemle tür düzeyinde ayırım *B. multivorans*, *B. vietnamiensis* ve *B. dolosa* için mümkün olmakta diğer türler tür düzeyinde tanımlanamamaktadır (80). 16S rRNA gen analizi *Burkholderia* türlerini *Burkholderia* olmayan türlerden ayırmak için kullanılabilecek bir yöntemdir.

recA geni, BCC türlerinin %99 civarında benzerlik göstermesi ile cins düzeyinde tanımlamaya olanak sağlamaktadır. *recA* gen analizi sonrası restriksiyon fragmanlarına ayrılarak oluşturulan modellerle *recA* genine dayanan filogenetik gruplandırma net bir biçimde yapılmıştır (82).

Multilokus sekans analizi (MLSA), farklı türler arasındaki benzerliği ortaya çıkarmak için alellerin nükleotid dizilenmesine dayanan filogenetik bir yöntem iken, multilokus sekans tiplendirmesi (MLST) ise mikroorganizmaların benzerlik ve farklılıkları alel profilindeki farklılıklar şeklinde ölçerek gruplandırılmış türler içindeki izolatların tanımlanmasında kullanılır. MLSA sonuçları DNA-DNA hibridizasyon yöntemleri ile gruplandırılmış olan türlerle benzer sonuçlar vermiştir. Özellikle yakın akraba olan türler arasındaki ilişkinin belirlenmesi için kullanılan geleneksel yöntemlerden daha üstün bir ayırım gücüne sahiptir. BCC türleri için MLSA ile kullanılan yedi lokusun amplifikasyonu ve dizi analizi yapılmıştır (80).

Tüm genom dizileme, bakteriyel taksonominin belirlenmesi için standart kabul edilmekte ve bu tekniklerin hızla gelişmesi ve maliyetlerinin düşmesi prokaryotik türler arasındaki ilişkilerin incelenmesi için bu yöntemi kullanmaya yönelik artan bir ilgiye neden olmuştur (83). Tüm genom dizileme verileri ile mikroorganizmaların tiplendirilmesi, türler arasındaki evrimsel ilişki, mikroorganizmaların patojenitesi, virülans faktörleri ve antibiyotik dirençleri ile ilgili bilgiler net şekilde elde edilebilmektedir (9).

2.7. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

Çoklu ilaca dirençli mikroorganizma sayısının artışı ve tüm dünyada mortalite ve morbidite oranlarının artması genel bir halk sağlığı sorunu haline

gelmiştir. Bu mikroorganizmalar arasında hem bağışıklığı basılanmış ve kronik akciğer hastalığı olan kişilerde yüksek oranda enfeksiyon yapma yeteneği hem de doğuştan gelen çoklu antibiyotik direnci BCC türlerini bu konuda daha tehlikeli hale getirmiştir. Bu mikroorganizma grubunun hastane ortamında, hastadan hastaya direk temas ile veya indirekt yollarla bulaşabilme özelliği tedavisinin doğru yönlendirilmesini önemli hale getirmektedir. Tedaviye erken ve doğru ajanla başlanması hastaların klinik yönetiminde etkili olduğu görülmüştür (15).

Antibiyotik duyarlılık testleri (ADT) hastaların klinik tedavisinin yönlendirilmesinde, epidemiyolojik verilerin oluşturulmasında ve bir mikroorganizmanın üremesini belirli bir dereceye kadar baskılayan ilaç konsantrasyonu olan minimum ilaç konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesinde kullanılmaktadır (84).

BCC türlerinin tanımlanmasındaki yaşanan zorluklara ek olarak antibiyotik duyarlılığını belirlemek için de standardize edilmiş bir yöntem hakkında görüş birliği bulunmamaktadır (12).

BCC türlerinde ADT için Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST) ve Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical & Laboratory Standards Institute - CLSI) farklı öneriler sunmaktadır (85,86). Hastaların klinik sonuçları ile ilişkilendirilebilecek yeterli klinik kanıt bulunmaması nedeni ile EUCAST bir sınır değer önermemiş olsa da CLSI seftazidim, kloramfenikol, levofloksasin, meropenem, minosiklin, tikarsilin/klavulanat ve trimetoprim/sülfametoksazol antibiyotiklerinin test edilmesi için agar dilüsyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri önerilirken, disk difüzyon yöntemini seftazidim, meropenem, minosiklin ve trimetoprim/sülfametoksazol antibiyotiklerinin duyarlılığın belirlenmesi için önermektedir (11,85,86).

2.7.1. Dilüsyon Temelli Testler

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi; standardize edilmiş 96 kuyucuklu mikrotitre plaklarında çalışmaktadır ve tek plakta birden fazla mikroorganizma ve antibiyotığın test edilmesine olanak sağlamaktadır. Kuyucuklarda antimikrobiyal ajan

konsantrasyonları ikiye katlanarak bulunmakta ve test sonuçları çıplak gözle değerlendirilebilmektedir.

MBD Sensititre System (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ABD), ComASP Colistin (Liofilhem, Roseto degli Abruzzi, İtalya) gibi ticari olarak temin edilebilen uygulaması kolay ticari kitler bulunmaktadır (84).

Uygun şartlarda hazırlanan bakteri süspansiyonunun plaklara inokulumunu takiben 16-24 saat inkübasyon sonrası değerlendirilen plaklardaki üremenin oluşturduğu bulanıklığın gözle görüldüğü ilk kuyucuk MİK değeri olarak belirlenir (87).

Agar dilüsyon yöntemi; antibiyotiklerin istenilen konsantrasyonlarının iki kat seyreltmelerinin hazırlanarak eriyik haldeki agar ortamına eklenmesi ile elde edilen plaklara hazırlanan mikroorganizma süspansiyonunun eklenmesi ve uygun inkübasyon sonucunda üremenin tamamen baskılandığı en düşük konsantrasyona sahip plaktaki antimikrobiyal konsantrasyon MİK olarak belirlenir. Bu yöntem aynı plak üzerinde birden fazla mikroorganizmanın çalışılmasına olanak sağlamaktadır (84).

2.7.2. Difüzyon Temelli Testler

Disk difüzyon testi; 1940 yılında geliştirilmesinden beri klinik laboratuvarlarda en sık kullanılan ADT yöntemi olarak standardize edilmiştir. Önceden hazırlanmış bakteri süspansiyonu agar üzerine inoküle edildikten sonra agar yüzeyine farklı antimikrobiyaller içeren disklerin yerleştirilmesiyle yapılmaktadır.

Uygun şartlarda 16-24 saat inkübasyon sırasında antimikrobiyaller agar yüzeyine yayılarak mikroorganizma üremesini engelleyerek üremenin olmadığı bir zon çapı meydana getirirler. Oluşan zon çapının ölçülerek kullanılan standart rehberle karşılaştırılıp test edilen antibiyotiğe karşı mikroorganizmanın direnç paterni belirlenmektedir (88).

Disk difüzyon testi, düşük maliyetli, kolay uygulanabilir ve çok sayıda bakteri türü ve antibiyotiğe uygulanabilirliği nedeniyle mikrobiyoloji laboratuvarlarında en yaygın kullanılan ADT yöntemidir (87).

E-Test yöntemi; basit ve kolay uygulanabilen difüzyonel bir test olmasının yanında dilüsyonel testler gibi MİK değerinin belirlenmesine de olanak sağlayan bir test yöntemidir.

Bir ucundan diğer ucuna şerit üzerinde etiketlenmiş artan konsantrasyonda antimikrobiyal emdirilmiş kağıt ya da plastik şeritler homojen mikroorganizma ekimi yapılmış agar yüzeyine yerleştirilmektedir. İnkübasyon sonrası oluşan eliptik şeklindeki inhibisyon zonunun şeritle birleşme noktası o antibiyotik için MİK değerini oluşturmaktadır (84).

2.7.3. Otomatize Sistemler

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarları hızlı ve güvenilir sonuç verme konusundaki baskıları otomatize sistemlerle yenmeye çalışmaktadır. Daha doğru sonuçların elde edilmesi, kısa zamanda sonuç alınması, az emek harcayarak sonuçların elde edilmesi ve verimli olmaları bu yöntemlerin avantajları arasında yer almakta ve VITEK® 2 Compact, MicroScan Walkaway (Dade-Behring MicroScan, Deerfield, IL, ABD) ve Phoenix sistemi (BD Diagnostic Systems, Baltimore, MD, ABD) gibi çeşitli test sistemleri çoğu laboratuvarında yer almaktadır.

Otomatize sistemlerde sonuçların değerlendirilmesi için hassas optik okuyucular kullanılması sonuçları daha standardize hale getirmekte ve daha hızlı sonuç alınmasını sağlamaktadır (89,90).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. *BURKHOLDERIA CEPACIA* KOMPLEKS İZOLATLARININ LABORATUVARDA ÜRETİLMESİ VE SAKLANMASI

Sağlık Bakanlığı Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 2020 – 2023 yılları arasında tanı ve tedavi amacıyla izlenen hastaların Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli örneklerinden (kan, trakeal aspirat, katater, doku, idrar) izole edilen 55 adet *Burkholderia cepacia* kompleks bakteri grubu kullanıldı. Aynı hastadan izole edilen yalnızca tek bir izolat çalışmaya dahil edildi.

Laboratuvarımıza gelen numuneler uygun besiyerlerine inoküle edilerek 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda üreyen mikroorganizmalar, VITEK® 2 Compact otomatize sistemi gram negatif tanımlama kartı (GN ID) kullanılarak *Burkholderia cepacia* kompleks olarak tanımlandı.

Tanımlanan izolatların antibiyotik duyarlılıkları VITEK® 2 Compact otomatize sisteminde N326 kartı kullanılarak elde edildi.

İzolatların taze kültürlerinden steril eküvyon ile alınan koloniler 3 ml steril salin solüsyonu (%0.9 sodyum klorür) içeren tüpte süspanse edilerek 0.5 McFarland standardına eşdeğer hücre sayısı ($\sim 1,5 \times 10^8$ cfu/mL) bulanıklığına ayarlandı. Bu süspansiyondan 140 µl alınıp 3 ml salin solüsyonu içeren başka bir steril tüpe aktarıldı. İlk tüpe VİTEK 2 otomatize sistemde kullanılan GN tanımlama kartı, diğer tüpe antimikrobiyal testleri çalışan GN N326 kartı konuldu. Bu şekilde hazırlanan izolatlar otomatize sisteme yüklendi ve elde edilen sonuçlar kaydedildi.

Burkholderia cepacia kompleks olarak tanımlanmış toplam 55 adet izolat, %20 gliserol (Merck®, Almanya) eklenmiş triptik soy broth besiyeri (Merck®, Almanya) içinde izolat stoklaması sonrası yapılacak çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C'de saklandı.

Örneklerinde *Burkholderia cepacia* kompleks üremesi olan hastaların yaş ve cinsiyet gibi demografik verileri, tedavi gördükleri klinik birim bilgileri, etken izolasyonu sonrası 28 günlük sağkalım durumları (sağkalım-ölüm), altta yatan

hastalıkları hastane yönetim bilgi sisteminin, hasta epikrizlerinin retrospektif olarak incelenmesiyle kaydedildi.

3.2. İZOLATLARIN MALDI-TOF MS İLE TANIMLANMASI

Burkholderia cepacia kompleks olarak tanımlanan ve -80°C’de saklanan izolatlar koyun kanlı agar besiyerine (RTA, İstanbul, Türkiye) en az iki kez pasajlanarak yeniden canlandırıldı ve 37°C’lik etüvde 24-48 saat inkübe edildi. Besiyerinde nemli sarı renkli üreyen mikroorganizmalardan gram boyama, oksidaz, glukoz fermentasyonu, indol, katalaz ve hareket testleri ile izolatların fenotipik özellikleri kullanılarak tanımlamaları yapıldı. Gram negatif, non-fermenter, hareketli, oksidaz ve katalaz pozitif, indol negatif olan bakteriler *Burkholderia cepacia* kompleks olarak kabul edildi. Örneklerin MALDI-TOF MS ile tanımlanmasında EXS 2600 (Zybio, Çin) cihazı kullanıldı.

Numune hazırlama prosedürü olarak formik asit ile doğrudan plaka ekstraksiyonu gerçekleştirildi.

- Bu amaçla, pasajlanan saf kolonilerden bir bakteri kolonisi alınarak 96 hedef bölgesi içeren çelik plaka üzerindeki bir noktaya aktarıldı.

- Daha sonra materyal ince bir tabaka elde edilene kadar hedef bölge içine sürüldü, 1 µl %70 formik asit çözeltisi (FA) ile kaplanarak oda sıcaklığı koşullarında kurumaya bırakıldı.

- Su/asetonitril/trifloroasetik asit hacim oranı 47,5:50:2,5 olan ve 10 mg/ml nihai konsantrasyona kadar α-Siyano-4-Hidroksisinnamik Asit (CHCA) eklenmiş matris çözeltisinden 1 µl kurumuş materyal üzerini kaplayacak şekilde eklendi.

- Kalibratör olarak *E. coli* ATCC 25922 protein ekstraktı, ribonükleaz ve 3,6-17 kDa kütle aralığını kapsayan miyogloblin içeren mikrobiyoloji kalibratörü kullanıldı.

- Spektrumlar otomatik olarak toplandı ve EX-Accuspec v1.0.21.7 yazılımı (Zybio Inc., Çin) kullanılarak tanımlandı.

- Tanımlama skorları;

$2.0 \leq \text{skor} \leq 3.0$: Olası tür düzeyinde tanımlama

$1.7 \leq \text{skor} < 2.0$: Olası cins düzeyinde tanımlama

Skor < 1.7 : Güvenilir olmayan tanımlama sonucu olarak değerlendirildi.

3.3. İZOLATLARIN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE TANIMLANMASI

3.3.1. Kromozomal DNA izolasyonu

Sıvı besiyerinde üretilen izolatlardan kromozomal DNA izolasyonu için Chen ve arkadaşları tarafından tarif edilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı (91).

- Luria–Bertani (LB) sıvı besiyerindeki (%1 tripton, %0,5 maya özütü, % 1 NaCl, pH 8.0) kültürlerden 1,5 mL mikrotüplere alınarak 12000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.

- Pellet 200 µl lizis tamponu [40 mM Tris pH:7,5, 20 mM sodyum asetat, 1 mM EDTA ve %1 sodyum dodesil sülfat (SDS)] ile resüspanse edildi. Lizis tamponu eklendikten sonra tüpler 1-2 dakika süre ile vorteks ile karıştırıldı.

- Lizat üzerine 70 µl 5 M NaCl konuldu, tüpler el ile dikkatlice yaklaşık 50 defa karıştırıldı ve 12000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi.

- Temiz lizattan, yaklaşık 200 µl’si steril başka bir mikrosantrifüj tüpüne konuldu ve üzerine 300 µl TE (10mM Tris-HCl, pH 8.0, 1mM EDTA, pH 8.0) tamponu ilave edildi.

- Üzerine eşit miktarda fenol/kloroform/izoamil alkol (25:24:1)’den ilave edildikten sonra tüp dikkatlice yaklaşık 50 kez alt üst edilerek karıştırıldı. 12000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi ve üst faz başka bir steril mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.

- Lizat hacminin yaklaşık iki katı kadar (1000 µl) %96’lık soğuk etanol ilave edilerek tüpler -80°C ’de 30 dakika boyunca bekletildi.

- Süre sonunda tüpler 12000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek DNA presipite edildi.

- Süpernatant kısım atıldıktan sonra pellet üzerine 500 µL %70'lik soğuk etanol eklenerek 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant atılarak etanol kalmaması için pellet kurutulmaya bırakıldı.
- Pellet üzerine 10 µl RNaz A (10 mg/mL) ve 70 µl TE (10mM Tris-HCl, pH 8.0, 1mM EDTA, pH 8.0) tamponu ilave edilerek 56°C'de 25-30 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı. Hazırlanan kromozomal DNA'lar %0,8'lik agaroz jelde tek bant olarak görüntülendi.

3.3.2. Kullanılan Primerler ve PZR Protokolü

Burkholderia cepacia kompleks izolatlarının tanımlanması için kullanılan gen bölgesi ve spesifik primerler Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. PZR deneyinde kullanılan hedef gen bölgesi ve oligonükleotid primerleri

Primer Adı	Dizi (5'→3')	Hedef Gen Bölgesi	Ürün Büyüklüğü (bp)	Referans
<i>B. cepacia</i> kompleks				
BCR1	TGACCGCCGAGAAGAGCAA	<i>recA</i>	1,043	(92)
BCR2	CTCTTCTTCGTCCATCGCCTC			

bp: Baz çifti

Burkholderia cepacia kompleks PZR reaksiyonu Tablo 4'te içerikleri ve miktarları belirtilen bileşenler kullanılarak Techne Genius TC-5000 Thermocycler cihazında (GMI, ABD) gerçekleştirildi (93).

Tablo 4. PZR reaksiyon içeriği

Bileşenler	Miktar (µl) 1x
2x Master mix (R&D Lab, Türkiye)	11,5
Primer 1	0,5
Primer 2	0,5
Kalıp DNA	0,5
Deiyonize su	12
Toplam reaksiyon hacmi	25

Burkholderia cepacia kompleks PZR protokolü Tablo 5’de bulunan koşullarına göre gerçekleştirildi.

Tablo 5. PZR protokolü koşulları

Primer Adı	PZR protokolü koşulları				
	Ön denatürasyon (Sıcaklık / Süre)	Denatürasyon (Sıcaklık / Süre)	Bağlanma (Sıcaklık / Süre)	Uzama (Sıcaklık / Süre)	Son Uzama (Sıcaklık/ Süre)
BCR1 BCR2	95°C / 3 dk	95°C / 30 sn	61°C / 30 sn	72°C / 1 dk	72°C /5 dk
Döngü Sayısı	-	34			-

3.3.3. Agaroz Jel Elektrofözezi

Amplifikasyon işlemlerinin ardından ürünlerin görüntülenmesi için %1'lik agaroz jel hazırlandı.

- 100 ml Tris EDTA tamponu (TAE, pH 8.4) çözeltisine 1 gr agaroz (Vivantis, Malaysia) eklendi.

- Mikrodalga fırınında agaroz eriyip homojen bir çözelti oluşana kadar ısıtıldı.

- Daha sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakıldıktan sonra üstüne 6 µl (1 mg/ml) etidyum bromür konuldu.

- Oluşan jel tablaya dikkatlice döküldü ve yükleme kuyucuklarının oluşması için tarak yerleştirildi.

- Jelin katılaşması için 30-40 dk bekledikten sonra taraklar nazik bir şekilde çıkartıldı. İçinde TAE tamponu olan elektroförez tankına yerleştirildi.

- PZR ürünleri 5-10 µl hacim ile yükleme kuyucuklarına konuldu.

- Elektroförez tankı güç kaynağına bağlandıktan sonra 70 V akımda 50-60 dk yürütüldü.

- Oluşan bantlar ultraviyole transillüminatörde (Vilber Lourmat, France) ve dijital görüntüleme cihazı ile (DNR Bio-Imaging Systems, MiniLumi, Israel) görüntüendi.

3.4. İZOLATLARIN DİSK DİFÜZYON VE E-TEST YÖNTEMLERİ İLE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Stoklanmış izolatlardan yeniden canlandırma ile elde edilen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılığı Muller-Hinton agar (RTA Laboratuvarları, Türkiye) kullanılarak CLSI önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile belirlendi (86).

- BCC türü olarak tanımlanan ve -80 °C'de %20 gliserol eklenmiş triptik soy broth içinde saklanan izolatlar koyun kanlı agar (RTA Laboratuvarları, Türkiye) besiyerine pasajlanarak yeniden canlandırıldı ve 37 °C'lik etüvde 24-48 saat inkübasyona bırakıldı.

- Koyun kanlı agarda en az iki saf pasaj elde edildikten sonra bakterilerin taze kültürlerinden 0,5 McFarland standardına eşdeğer inokulum süspansiyonu hazırlandı.
- Steril eküvyon, süspansiyona batırılıp ardından tüpünün iç kenarına bastırılıp çevrilerek fazla sıvının atılması sağlandı.
- İnokulum, süspansiyon emdirilmiş eküvyonla Mueller-Hinton besiyerinin yüzeyine üç yönde eşit şekilde yayıldı.
- Daha önceden oda sıcaklığına getirilmiş seftazidim 30 µg, meropenem 10 µg, minosiklin 30 µg, trimetoprim-sülfametoksazol 1,25-23,75 µg antibiyotik emdirilmiş diskler (Oxoid, İngiltere) ile tikarsilin-klavulanat ve levofloksasin içeren gradient test şeritleri (Oxoid, İngiltere) bakteri inoküle edilmiş besiyeri yüzeyine inokülasyonu takiben 15 dakika içerisinde yerleştirildi.
- Plaklar ters çevrilerek 34-36°C'de 18-20 saat inkübe edildikten sonra disklerin inhibisyon zon çapları belirlenmiş ve CLSI M100 protokolünde yer alan zon çapları eşik değerlerine göre duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak yorumlandı (86).
- Antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi sırasında orta duyarlı (I) olarak saptanan izolatlar değerlendirmeye dirençli (R) olarak alındı.

3.5. İZOLATLARIN SIVI MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

-Katyon ayarlı Mueller Hinton sıvı besiyeri hazırlanması: Üretici firma önerileri doğrultusunda 22 gr toz halindeki katyon ayarlı Mueller Hinton broth besiyeri (HiMedia Lab., USA) hassas terazide tartıldı ve 1000 ml distile su içine eklenerek homojen hale gelene kadar çalkalanarak karıştırıldı. 15 dk 121°C'de otoklavda steril edildi.

- Stoklanmış izolatlardan yeniden canlandırma ile elde edilen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılığı Sensititre Gram Negatif GNX3F duyarlılık paneli (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak CLSI önerileri doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi.

- BCC türü olarak tanımlanan ve -80 °C’de gliserollü triptik soy broth içinde saklanan izolatlar koyun kanlı agar (RTA Laboratuvarları, Türkiye) besiyerine pasajlanarak yeniden canlandırıldı ve 37 °C’lik etüvde 24-48 saat inkübasyona bırakıldı.

- Koyun kanlı agarda en az iki saf pasaj elde edildikten sonra bakterilerin taze kültürlerinden 3-5 koloni seçilerek iğne öze ile alınıp Sensititre Demineralize Su® (Katalog no: T3339) içerisinde karıştırıldı. Vortekslenerek homojen bir süspansiyon hazırlandı ve bulanıklığı 0.5 McFarland standardına eş değer olacak şekilde ayarlandı.

- Süspansiyonun 10 µl’si alınarak 11 ml’lik tamponlu katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyeri tüpü içerisine transfer edilerek 1×10^5 CFU/ml inokulum elde edildi.

- 30 dakika içerisinde mikroplağın her kuyucuğuna hazırlanan son süspansiyondan 50 µl alınarak aktarıldı. Koloni sayımı ve inokulum kontrolü amacıyla pozitif kontrol kuyucuğundan 1 µl alınarak kanlı agar üzerine ekim yapıldı.

- Kontaminasyonu ve saçılmayı önlemek amacıyla tüm kuyucuklar yapışkan mühür ile kapatıldı. Ekim yapılan kanlı agar ve mikropalak 34-36°C’de, CO₂’siz inkübatörde 24 saat inkübe edildi.

- İnkübasyon sonunda mikropalaklar üretici firmanın önerileri doğrultusunda değerlendirildi. Doğru inokulumu değerlendirmek için ekim yapılan kanlı agarda 100 koloni sayılan ve pozitif kontrol kuyucuğu bulanık olan mikropalaklarda, antibiyotiklerin MİK değerleri belirlendi.

- Kuyucuklardaki bakteri üremesi, kuyucuklarda bulanıklık veya kuyucuk tabanında hücre birikimi olarak kabul edildi.

- MİK değeri, görünür büyümeyi engelleyen en düşük antimikrobik konsantrasyon olarak kaydedildi.

- Antibiyotiklerin MİK değerleri; CLSI tarafından önerilen M100 protokolünde yer alan türe özgü klinik sınır değerlerine göre duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak değerlendirildi (86).

- Antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi sırasında orta duyarlı (I) olarak saptanan izolatlar değerlendirmeye dirençli (R) olarak alındı.

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853 kullanılarak antibiyotiklerin kalite kontrolü yapıldı.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmaya dahil edilen izolatların tanımlanma ve antibiyotik duyarlılık testlerinden elde edilen veriler yöntemler arasında ve hastaların özelliklerine SPSS 18.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) kullanılarak analiz edildi. Tanımlayıcı istatistikler sayı (n), yüzde (%), ortalama, standart sapma, medyan, çeyrekler arası aralık (IQR, %25-75) olarak belirtildi. Kategorik verilerin sıklık oranları arasındaki farkın karşılaştırılmasında Pearson's Ki-kare ve Fisher's uygunluk testleri kullanıldı. $p \leq 0,05$ olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bu çalışma için Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 06.12.2023 tarihinde (Karar Numarası: 2023/272) bilimsel ve etik yönden uygunluk kararı alınmıştır.

4. BULGULAR

VITEK® 2 Compact sistemi ile *Burkholderia cepacia* kompleks olarak tanımlanan ve çalışmaya dahil edilen 55 klinik örneğin; ek tanımlama çalışmaları MALDI-TOF MS ve PZR yöntemleri ile, antibiyotik duyarlılıkları ise dilüsyon temelli olan sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve difüzyon temelli yöntemlerden disk difüzyon ve E-Test yöntemleri kullanılarak belirlendi.

Çalışmaya dahil edilen 55 klinik izolatin 24'ü kan kültüründen, 21'i trakeal aspirat kültüründen, 5'i katater kültüründen, 3'ü doku kültüründen ve 2'si idrar kültüründen izole edilmiştir.

Çeşitli klinik örneklerden izole edilerek BCC olarak tanımlanan 55 izolat BCR 1-2 primerlerinin kullanıldığı PZR yöntemi ve MALDI-TOF MS yöntemleri ile tekrar tanımlandı. Tanımlama çalışmasında moleküler yöntem olan PZR altın standart olarak kabul edildi ve diğer yöntem PZR yöntemine göre değerlendirildi. PZR ile tanımlama sonucunda BCC olarak doğrulanan 48 izolat antibiyotik duyarlılık testlerine tabi tutuldu.

VITEK® 2 Compact sistemi ile BCC olarak tanımlanan 55 izolatin PZR yöntemi ve MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlama sonuçları Tablo 6'da gösterildi.

Tablo 6. İzolatların tanımlama sonuçları

İzolat no	MALDI-TOF MS (Skor)	recA PZR	İzolat no	MALDI-TOF MS (Skor)	recA PZR
1	<i>B.cepacia</i> (2.42)	Poz	30	<i>B.cepacia</i> (2.36)	Poz
2	<i>B.cepacia</i> (2.28)	Poz	31	<i>S.maltophilia</i> (2.23)	Neg
3	<i>S.maltophilia</i> (2.41)	Poz	32	<i>B.cepacia</i> (2.33)	Poz
4	<i>S.maltophilia</i> (2.40)	Poz	33	<i>B.cepacia</i> (2.28)	Poz
5	<i>S.maltophilia</i> (2.29)	Poz	34	<i>B.cepacia</i> (2.34)	Poz
6	<i>S.maltophilia</i> (2.42)	Poz	35	<i>B.cepacia</i> (2.27)	Poz

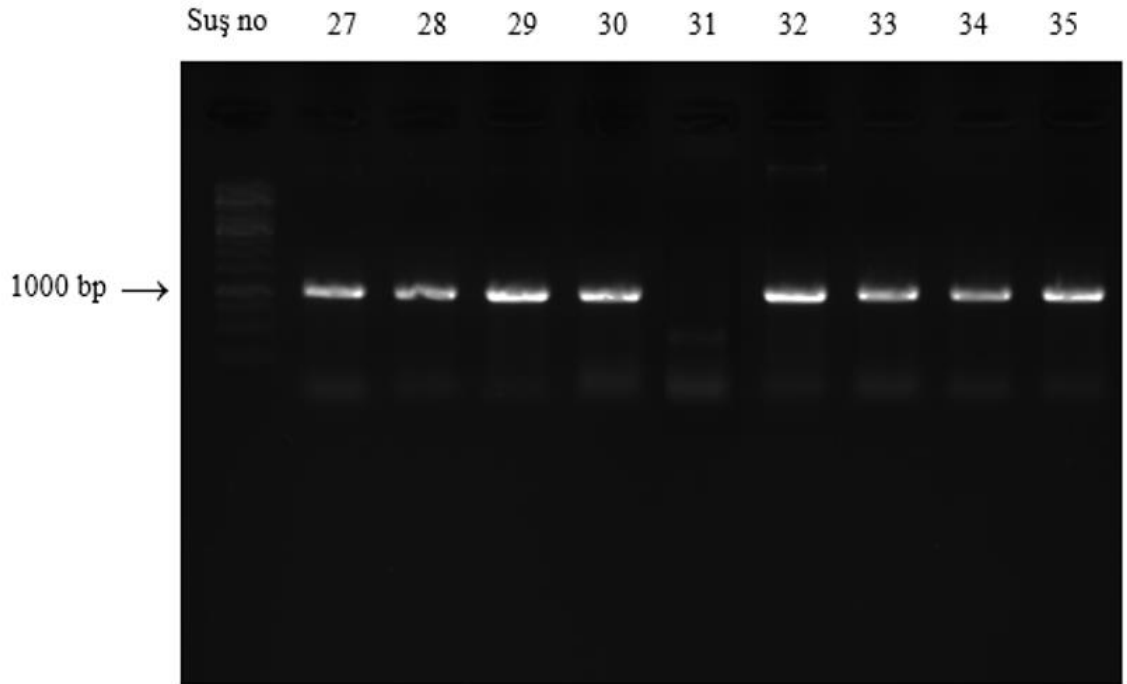
7	<i>B.cepacia</i> (2.42)	Poz	36	<i>S.maltophilia</i> (2.28)	Neg
8	<i>B.cepacia</i> (2.28)	Poz	37	<i>S.maltophilia</i> (2.39)	Neg
9	<i>B.cepacia</i> (2.41)	Poz	38	<i>B.cepacia</i> (2.31)	Poz
10	<i>B.cepacia</i> (2.35)	Poz	39	<i>S.maltophilia</i> (2.34)	Poz
11	<i>B.cepacia</i> (2.42)	Poz	40	<i>B.cepacia</i> (2.28)	Poz
12	<i>B.cepacia</i> (2.41)	Poz	41	<i>B.cepacia</i> (2.24)	Poz
13	<i>B.cepacia</i> (2.39)	Poz	42	<i>B.cepacia</i> (2.34)	Poz
14	<i>B.cenocepacia</i> (2.40)	Neg	43	<i>B.cepacia</i> (2.27)	Poz
16	<i>B.cepacia</i> (2.22)	Neg	44	<i>B.cepacia</i> (2.10)	Poz
17	Tanımlanamadı	Neg	45	<i>S.maltophilia</i> (2.22)	Poz
18	<i>B.cepacia</i> (2.29)	Poz	46	<i>B.cepacia</i> (2.41)	Poz
19	<i>B.cepacia</i> (2.18)	Poz	47	<i>B.cepacia</i> (2.40)	Poz
20	<i>B.cepacia</i> (2.28)	Poz	48	<i>B.cepacia</i> (2.33)	Poz
21	<i>B.cepacia</i> (2.14)	Poz	49	Tanımlanamadı	Neg
22	<i>B.cepacia</i> (2.33)	Poz	50	<i>B.cepacia</i> (2.39)	Poz
23	<i>B.cepacia</i> (2.26)	Poz	51	<i>B.cenocepacia</i> (2.30)	Poz
24	<i>B.cepacia</i> (2.19)	Poz	52	<i>B.cepacia</i> (2.42)	Poz
25	<i>B.cepacia</i> (2.31)	Poz	53	<i>B.cepacia</i> (2.40)	Poz
26	<i>B.cepacia</i> (2.33)	Poz	54	<i>B.cepacia</i> (2.41)	Poz
27	<i>B.cepacia</i> (2.32)	Poz	55	<i>B.cepacia</i> (2.41)	Poz
28	<i>B.cepacia</i> (2.38)	Poz	56	<i>B.cepacia</i> (2.40)	Poz
29	<i>B.cepacia</i> (2.24)	Poz			

Poz: Pozitif, Neg: Negatif.

Çalışmaya dahil edilen 55 izolatın MALDI-TOF MS yöntemi ile değerlendirilmesi sonucunda; 42 (%76.4) izolat *B. cepacia*, 2 (%3.6) izolat *B. cenocepacia*, 9 (%16.4) izolat *S. maltophilia* olarak tanımlanırken, 2 (%3.6) izolat bu yöntemle tanımlanamadı.

recA genine spesifik BCR1-2 primerleri kullanılarak yapılan PZR çalışması sonucunda; 48 (%87.3) izolat *recA* geni pozitif sonuç verirken 7 (%12.7) izolat *recA* geni açısından negatif sonuç verdi (Şekil 1.).

İzolatların agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi ile *recA* geni pozitif izolatların beyaz renkli bant oluşturduğu, *recA* geni negatif izolatların ise agaroz jelde herhangi bir bant görünümü oluşturmadığı gözlemlendi. Çalışmadan elde edilen bant görüntülerinin bir kısmı Şekil 1.'de verildi.



Şekil 1. Çalışmadan bazı izolatların agaroz jel elektroforezindeki görünimleri

(Beyaz renkli bant görünen jel bölmeleri *recA* geni pozitif izolatlara, renkli bant görünmeyen jel bölümü *recA* geni negatif izolata aittir.)

MALDI-TOF MS yöntemi ile çalışılmasının sonucunda tanımlanamayan 2 izolat, *S. maltophilia* olarak tanımlanan 3 izolat, *B. cepacia* ve *B. cenocepacia* olarak tanımlanan birer izolat olmak üzere toplam 7 izolatın PZR çalışması sonucunda *recA* geni negatif saptandı. MALDI-TOF MS yöntemi ile *S. maltophilia* olarak tanımlanan 9 izolatın 6 tanesi PZR yöntemi ile *recA* geni açısından pozitif bulundu. Tanımlama çalışmasına ait sayısal veriler ve yöntemlerin karşılaştırılması Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Tanımlama çalışmasına ait sayısal veriler ve yöntemlerin karşılaştırılması

	<i>recA</i> PZR		Total
	Negatif	Pozitif	
MALDI-TOF MS <i>B. cenocepacia</i>	1	1	2
<i>B. cepacia</i>	1	41	42
<i>S. maltophilia</i>	3	6	9
TANIMSIZ	2	0	2
Total	7	48	55

recA genine spesifik PZR çalışması sonuçları referans olarak kabul edildiğinde MALDI-TOF MS ile yapılan tanımlamalarda, MALDI-TOF MS yönteminin duyarlılığı %87.5, özgüllüğü %71.4, pozitif prediktif değeri %95.4 ve negatif prediktif değeri %45.4 olarak saptandı.

Klinik örneklerden izole edilen mikroorganizmaların rutin tanımlanması VITEK® 2 Compact sistemi ile yapılarak çalışmaya alınmasından dolayı VITEK® 2 Compact sistemi için duyarlılık, özgüllük ve negatif prediktif değer çalışması yapılamamış sadece pozitif prediktif değer çalışması yapılabilmiş ve VITEK® 2 Compact sisteminin pozitif prediktif değeri %87.2 olarak hesaplanmıştır.

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve PZR ile doğrulanan 48 *Burkholderia cepacia* kompleks izolatının ürettiği hastalara ait yaş, cinsiyet gibi demografik veriler, örnek türü, tedavi gördükleri klinik birim, COVID-19 pozitifliği, 28 günlük mortalite oranları ve aldıkları tedavi gibi bazı klinik özellikler Tablo 8’de verilmiştir.

PZR çalışması sonucu pozitif saptanarak çalışmaya dahil edilen 48 izolata ait hasta bilgileri değerlendirildiğinde, hastaların yaş ortalaması 66.87 ± 14.1 yıl olup hastaların 29’u (%60.4) erkek, 19’u (%39.6) kadındı. Klinik örneklerin çoğunluğunu 21 (43.8) örnekle kan kültürü örnekleri oluştururken, bunu 19 (39.6) örnekle trakeal aspirat örnekleri takip etmekteydi. Hastaların %79.2’ si (39) yoğun bakım ünitelerinde tedavi almaktaydı. Kültüründe üreme saptanan 37 (%77.1) hastaya antibiyotik tedavisi başlanmış, 11 (%22.9) hastaya herhangi bir tedavi başlanmamıştı. Hastalara en fazla meropenem (%39.6) tedavisi uygulanmıştı. Hastaların 4’ünün BCC izole edildiği dönemde COVID-19 PZR test sonucu pozitifti. Hastaların prognozları değerlendirildiğinde, 48 hastanın 21’i (%43.8) takipleri sonunda ex olmuş, 27 hasta ise (%56.3) hastaneden taburcu edilmişti.

Tablo 8. Hastalara ait demografik veriler ve bazı klinik özelliklerin dağılımı

Demografik Veriler ve Klinik Özellikler		PZR ile doğrulanan izolatlar
Cinsiyet, n (%)	Kadın	19 (39.6)
	Erkek	29 (60.4)
Yaş, medyan (IQR)		68 (59-78)
Yaş, ortalama $\pm$ SD		66.87 ± 14.1
Yaş, n (%)	<65 yaş	20 (41.7)
	≥ 65 yaş	28 (58.3)
Klinik birim, n (%)	Yoğun bakım	38 (79.2)
	Servis	10 (20.8)

Örnek türü	Kan	21 (43.8)
n (%)	TAK	19 (39.6)
	Katater	4 (8.2)
	Doku	2 (4.2)
	İdrar	2 (4.2)
COVID-19 test sonucu	Pozitif	4 (8.3)
	Negatif	44 (91.7)
Hastaya verilen tedavi	Tedavi verilen	37 (77.1)
n (%)	MEM	19 (39.6)
	CAZ	3 (6.3)
	SXT	11 (22.9)
	MEM-SXT	4 (8.3)
	Tedavi verilmemiş	11 (22.9)
28 günlük mortalite,	Sağkalım	27 (56.3)
n (%)	Ölüm	21 (43.8)

SD:Standart sapma, IQR:Çeyrekler arası aralık,%25-75, TAK: Trakeal aspirat kültürü, CAZ: Seftazidim, MEM: Meropenem, SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol, MEM-SXT: Meropenem ve Trimetoprim-sülfametoksazol kombinasyon tedavisi, n:Sayı

CLSI M100 kriterlerine göre BCC türlerinin antibiyotiklere karşı duyarlılık durumları yorumlandı. Çalışmaya dahil edilen 48 izolatın sıvı mikrodilüsyon yöntemi, disk difüzyon yöntemi ve E-Test yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarının çalışılmasından elde edilen yorumlama sonuçları Tablo 9’da belirtildi. BCC izolatlarının tamamı disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile minosiklin ve trimetoprim-sülfametoksazol antibiyotiklerine duyarlı saptandı. BCC izolatlarının tamamı E-Test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile levofloksasine duyarlı bulundu. Seftazidim açısından disk difüzyon yöntemi ile 3 izolat, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 4 izolat dirençli bulunurken; disk difüzyon yöntemi ile 7 izolat, sıvı

mikrodilüsyon yöntemi ile 6 izolat meropenem antibiyotiğine karşı dirençli saptandı. İzolatlarda en çok direnç görülen antibiyotik tikarsilin-klavulanik asit olarak gözlemlendi. E-Test yöntemi ile 40 izolatta, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 45 izolatta tikarsilin-klavulanik asite karşı direnç saptandı.

Tablo 9. Çalışılan izolatların antibiyotik duyarlılıkları değerlendirilmesi

DİFÜZYONEL YÖNTEMLER			DİLÜSYONEL YÖNTEMLER			YÖNTEM KARŞILAŞ- TIRILMASI
Antibiyotik	Duyarlılık, n (%)		Antibiyotik	Duyarlılık n (%)		
DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİ			SIVI MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ			p değeri
CAZ	S	45 (93.7)	CAZ	S	44 (91.7)	<0.001 ^a
	R	3 (6.3)		R	4 (8.3)	
MEM	S	41 (85.4)	MEM	S	42 (87.5)	<0.001 ^a
	R	7 (14.6)		R	6 (12.5)	
MIN	S	48 (100)	MIN	S	48 (100)	<0.001 ^a
	R	0 (0)		R	0 (0)	
SXT	S	48 (100)	SXT	S	48 (100)	<0.001 ^a
	R	0 (0)		R	0 (0)	
E-TEST YÖNTEMİ						0.068^a
TCC	S	8 (16.7)	TCC	S	3 (6.3)	
	R	40 (83.3)		R	45 (93.7)	
LEV	S	48 (100)	LEV	S	48 (100)	
	R	0 (0)		R	0 (0)	

a: Fisher'in kesin testi, CAZ: Seftazidim, MEM: Meropenem, SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol, MIN: Minosiklin, TCC: Tikarsilin-klavulanik asit, LEV: Levofloksasin, n: Sayı.

İzolatların difüzyon ve dilüsyon temelli yöntemler ile çalışılan antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Tablo 9’da verilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde tikarsilin-klavulanik asit dışındaki diğer antibiyotiklerin sonuçları yöntemler arasında anlamlı şekilde uyumlu bulunmuştur. ($p<0,001$) Tikarsilin-klavulanik için E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri çalışılmış ve sonuçlar uyumsuz bulunmuştur. ($p=0,068$)

Test edilen izolatların %50’sini inhibe eden konsantrasyon MİK 50, %90’ını inhibe eden konsantrasyon MİK 90 olarak ifade edildi. BCC türlerinde antibiyotik ilaçların sıvı mikrodilüsyon ve E-Test yöntemi ile elde edilen MİK aralıkları, MİK 50 ve MİK 90 değerleri toplu olarak Tablo 10’da sunuldu.

Tablo 10. Çalışılan izolatların MİK aralıkları, MİK 50 ve MİK 90 değerleri

Antibiyotikler	Test yöntemleri	MİK Aralık (µg/ml)	MİK 50 (µg/ml)	MİK 90 (µg/ml)
CAZ	SMD	<1 - >16	4	8
MEM	SMD	<1 - >8	2	>8
MIN	SMD	<2 - 4	<2	<2
SXT	SMD	<0.5/9.5 – 1/19	<0.5/9.5	<0.5/9.5
TCC	SMD	<16/2 - >128/2	>128/2	>128/2
	E-Test	0.5/2 - >256/2	>256/2	>256/2
LEV	SMD	<1 - 2	<1	<1
	E-Test	0.064 – 0.75	0.38	0.5

CAZ: Seftazidim, MEM: Meropenem, SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol, MIN: Minosiklin, TCC: Tikarsilin-klavulanik asit, LEV: Levofloksasin, MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon.

5. TARTIŞMA

Bakteri tanımlanmasının cins ve tür düzeyinde doğru şekilde yapılması özellikle klinik önemi olan bakteriler göz önüne alındığında hastanın tedavisinin doğru şekilde yönlendirilmesi için büyük önem taşımaktadır (79). Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen *Burkholderia cepacia* kompleks grubu mikroorganizmaların tanımlanma ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi ile hastanemiz ve bölgemizdeki direnç profili oluşturularak kullanılan yöntemler arasındaki farklılıklar ortaya kondu. Yapılan tanımlama çalışmaları sonucunda MALDI-TOF MS yönteminin duyarlılığı %87.5 olarak saptanmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık çalışmaları sonucunda tikarsilin- klavulanik asit dışında çalışılan diğer antibiyotikler için difüzyonel ve dilüsyonel yöntemler arasında uyum saptanmışken, tikarsilin- klavulanik asit için bu yöntemler arasında uyumsuzluk saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen tüm izolatlar dilüsyon ve difüzyon yöntemleri sonuçlarına göre levofloksasin, minosiklin ve trimetoprim-sülfametoksazol antibiyotiklerine karşı duyarlı olarak saptanmıştır.

Burkholderia cepacia kompleks grubu içerisinde bulunan mikroorganizmaların hastalık yapıcı etkileri ve sebep oldukları hastalık şiddetinin farklı olması, *B.cenocepacia* ile enfekte kistik fibrozis hastalarının akciğer nakline aday gösterilmemesi gibi durumlar bu grup mikroorganizmaların tür düzeyinde tanımlanmasını hasta açısından kritik hale getirmiştir (94).

Burkholderia cepacia kompleks grubu mikroorganizmaların türler arası yüksek fenotipik ve genotipik benzerlik göstermesi ve tanımlama sırasında diğer non-fermente gram negatif bakterilerle ayırımında yaşanan zorluklar doğru yöntemin seçilmesi konusunu önemli hale getirmektedir. Kullanılan biyokimyasal test panelleri ve otomatize sistemlerle bu türlerde özellikle *Ralstonia*, *Achromobacter*, *Comamonas*, *Delftia*, *Pandoraea* ve *Pseudomonas* türleri, *S. maltophilia*, *B. gladioli*, *Alcaligenes spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Flavobacterium spp.* ve *Chryseobacterium spp.* gibi tanımlamalar yapıldığı bildirilmiştir (72,95). Yapılan çalışmada *S. maltophilia* MALDI-TOF MS tarafından yanlış tanımlanan mikroorganizma olarak görülmektedir.

Brezilya’da 91 izolat ve Hindistan’da 50 izolatla yapılan tanımlama çalışmalarında MALDI-TOF MS yönteminin duyarlılığı cins düzeyinde iki çalışmada da %100 olarak saptanmıştır (96,97). Mevcut çalışma ile bu oran %87.5 olarak bulunmuştur. Wong ve arkadaşlarının yaptığı iki farklı MALDI-TOF MS sistemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada cins düzeyinde doğru tanımlama oranları %100 ve %97 olarak verilmiştir (77).

MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlama yapılırken karşılaşılan en önemli sorun *Burkholderia cepacia* kompleks üyelerinin tür düzeyinde tanımlanması olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur. Yapılan çalışmalarla MALDI-TOF MS yönteminin tür düzeyinde doğru tanımlama yüzdelерinin %67 ile %89 arasında değiştiğı gözlenmiştir. Bu çalışmalarda tür düzeyinde yanlış tanımlamanın nedeni değerlendirildiğinde MALDI-TOF MS sistemlerinin kütüphanesinde türlerin bazılarına ait referans spektrumların olmadığı sonucuna varılmıştır (77,96,98,99). Mevcut çalışmada MALDI-TOF MS ile 42 izolat *B. cepacia* ve 2 izolat *B.cenocepacia* olarak tanımlansa da, bu isolatlar moleküler bir yöntemle tür düzeyinde tanımlanmamıştır sadece cins düzeyinde tanımlama yapılmıştır.

Burkholderia cepacia kompleks grubu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar hasta popülasyonuna, hastaların kronik hastalığının bulunmasına, hastanede tedavi aldıkları klinik birime ve immünsüpresyon durumuna göre değişmektedir (100). Türkiye’de yapılan 5 yıllık bir çalışmada 87 izolat incelenmiş ve enfeksiyon saptanan hastaların %59.8’i erkek ve ortalama yaş 59.0 ± 18.3 yıl olarak belirlenmiş ve enfeksiyon en sık %79.3 oranında yoğun bakım ünitelerinde ortaya çıkmıştır (101). Türkiye’de bir üniversite hastanesinde yapılan ve 39 izolatin dahil edildiğı bir çalışmada erkek hastaların daha fazla olduğu, en fazla yoğun bakım ünitelerinde tedavi gördükleri ve ortalama yaşın 54.4 ± 23.4 yıl olduğu belirtilmiştir (102). Ülkemizde 50 izolat ile yapılan başka bir çalışmada 43 hastanın yoğun bakımda tedavi gördüğü ve 32 hastanın erkek olduğu belirtilmiştir (5). Bu çalışmada çalışmaya dahil edilen hastaların %60.4’ünün erkek olması ve hastaların %79.2 si yoğun bakım ünitesinde tedavi görmesi ile Türkiye’deki literatüre uygun şekilde benzerlik göstermektedir. Mevcut çalışmada bulunan ortalama hasta yaşının 66.88 ± 14.1 olması literatürdeki çalışmalar ile farklılık göstermiştir. Hindistan’da 153 izolat ile yapılan bir çalışmada hastaların %76.4’ünün erkek olması isolatların

çoğunun yoğun bakım ünitelerindeki tedavi görmesi bu çalışma da gösterildiği gibi hastaların çoğunluğunun kritik durumda ve ileri yaşta olduğu konusunda destekleyici olmuştur(103).

Burkholderia cepacia kompleks üreyen örneklerin dağılımı incelendiğinde en fazla üreme saptanan örnek türü %43.8 oranında kan kültürü olarak saptanmıştır. Türkiye’de 87 ve 39 izolatın dahil edildiği iki çalışmada ve Hindistan’da 153 izolat ile yapılan çalışmada baskın örnek türü solunum yolu örnekleri olarak belirtilmiştir (101–103).

Çin’de yapılan ve COVID-19 pozitif hastaları kapsayan bir çalışmada *Burkholderia cepacia* kompleks grubu mikroorganizmaların solunum yolu mikrobiyatasında baskın tür olarak saptandığı bu türlerin çoklu antimikrobiyal dirence sahip oldukları ve özellikle durumu ağır ve yoğun bakım hastalarında hastanede yatış süresini uzattıkları ve sağkalım üzerinde olumsuz etkileri olduğu belirtilmiştir (104). Mevcut çalışmada hastaların COVID-19 pozitiflik oranları taranmış olup 4 (%8.3) hastada pozitiflik saptanmıştır. Bu hastaların ortak özellikleri yoğun bakımlarda tedavi almaları iken, 2 hastanın enfeksiyonu mortal seyretmiştir.

Ülkemizdeki yapılan iki çalışmanın verileri incelendiğinde ölüm oranları %52.8 ve %53.8 olarak saptanmıştır (101,102). Meydana gelen 111 salgın raporunun incelendiği bir derleme çalışmasında *Burkholderia cepacia* kompleks ile enfekte olan hastalarda ölüm oranı %45.1 olarak belirtilmiştir (105). İtalya’da 16 ay süren bir salgın sonucu yapılan çalışmada enfekte olan 46 hastanın ölüm oranı %50 olarak belirlenmiş ve en fazla ölüm oranının yoğun bakımda gerçekleştiği belirtilmiştir (106). Mevcut çalışmanın verileri değerlendirildiğinde hastaların 28 günlük mortalite oranı %43.8 olarak saptanmış ve hem ülkemiz hem küresel verilerle uyduğu gözlenmiştir.

Küresel ve ülkemizdeki yayınlar incelendiğinde tedavi başlanan hasta oranları ile ilgili değişken sonuçlar bildirmektedir. Amerika Birleşik Devletleri’nde yapılan ve kan dolaşım enfeksiyonuna sahip 248 hastanın dahil edildiği bir çalışmada hastaların %95’ine tedavi başlanmış ve en çok kullanılan ajanlar %35 oranında florokinolonlar ardından %20 oranında karbapenem grubunun kullanıldığı belirtilmiştir. Ayrıca hastaların %29’una farklı rejimleri içeren kombinasyon tedavisi

uygulanmıştır. İtalya’da yapılan bir çalışmada ise tedavi başlanan hasta oranı %65.2 olarak bulunmuş ve en fazla kullanılan ajan piperasilin-tazobaktam olarak belirtilmiştir (106). Ülkemizde yapılan bir çalışmada hastalara antibiyoterapi başlama oranı %50.6 olarak belirlenmiştir (101). Mevcut çalışmada genel tedavi alan hastaların oranı %77.1 iken tedavide en fazla kullanılan antibiyotiğin %39.6 oranında meropenem olduğu tespit edilmiştir.

Hastaların tedavisinde kullanılan antibiyoterapi seçiminin mevcut kılavuzlar ve klinik gözlemler neticesinde değerlendirildiğinde farklı zamanlarda farklı tedavi rejimleri uygulanmasının sebebi anlaşılabilir olmuştur. *Burkholderia cepacia* kompleks için güncel kılavuzlarda bulunmayan ancak özellikle karbapenem direnci gösteren gram negatif bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlarda kullanılmak üzere 2015 yılında “Food and Drug Administration” (FDA) tarafından onaylanan yeni bir β -laktam/ β -laktamaz inhibitörü kombinasyonu olan seftazidim-avibaktam kullanımı göz önüne alınmalıdır. Yapılan çalışmalarla seftazidim ve karbapenem direnci gösteren *Burkholderia cepacia* kompleks izolatları seftazidim-avibaktama karşı duyarlı bulunmuştur (107–109).

Klasik atibiyoterapiye cevap vermeyen ve çoklu ilaç direncine sahip *P.aeruginosa* ve *Burkholderia cepacia* kompleks enfeksiyonuna sahip sekiz kistik fibrozis hastasında yapılan bir vaka serisinde seftazidim-avibaktam kullanımının klinik, inflamatuvar parametreler ve akciğer fonksiyonlarında iyileşme ile sonuçlandığı bildirilmiştir (110).

Diyafram herni operasyonu sonrası seftazidime ve meropeneme dirençli *B. contaminans* benzeri bir etkenin neden olduğu bakteriyemi gelişen 2 aylık bir bebekte, seftazidim-avibaktam duyarlılığı CLSI dökümanlarındaki *Pseudomonas aeruginosa* kriterlerine göre değerlendirilerek duyarlı bulunarak tedaviye başlanmış ve tedavinin 24. saatinde kan kültüründe üreme olamadığı gözlenmiştir (111).

Mevcut veriler doğrultusunda çoklu ilaç direncine sahip *Burkholderia cepacia* kompleks enfeksiyonu tedavisi sırasında seftazidim-avibaktam kullanımının yaygınlaşması için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

BCC tanısının erken ve doğru şekilde koyularak doğru antimikrobiyal duyarlılık profilinin belirlenmesi prognoz üzerinde olumlu etki göstermektedir. BCC

enfeksiyonları nadir görülmekle birlikte yüksek mortalite oranına sahip olup özellikle bağışıklığı baskılanmış, yoğun bakım ünitelerinde tedavi alan hastalarda görülmesinin yanında efflux pompa sistemleri ve beta-laktamaz enzimleri nedeniyle birçok antibiyotiğe karşı doğal direnç göstermesi klinik önemini arttırmaktadır. Bu antimikrobiyal direnç profili hastalara uygun ampirik antimikrobiyal tedavi başlanmasının önünde önemli bir engel olarak karşımıza çıkmaktadır. Tüm bu durumlara rağmen bu enfeksiyon ajanlarının antimikrobiyal duyarlılık profilleri ve klinik seyirleri için yapılan olgu serileri dışında yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır (112).

BCC izolatları antimikrobiyal duyarlılık çalışmaları için European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerilerinde klinik değerlendirme kriterleri bulunmamaktadır bu nedenle çalışılacak yöntemin belirlenmesi ve yorumlanması için Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)'ne ait değerlendirme kriterleri kullanılmakta ve BCC antimikrobiyal duyarlılık testi için dilüsyon yöntemlerini önermektedir (85,86).

Bu çalışmada her iki antimikrobiyal duyarlılık yöntemi sonuçları değerlendirildiğinde tüm izolatlar trimetoprim-sülfametoksazol, levofloksasin ve minosikline duyarlı olarak saptandı. Bu sonuçlar BCC izolatlarının trimetoprim-sülfametoksazole %83 ile %100 gibi yüksek oranda duyarlı olduğu diğer çalışmalarla uyum göstermiştir (11,58,101,109,113).

Minosiklinin BCC izolatları üzerindeki etkisinin araştırıldığı 243 ve 82 izolatın kullanıldığı iki çalışmada izolatların duyarlılığı sırası ile %85.9 ve %87.8 olarak saptanmış ve sonuçlar bu çalışmadaki gibi yüksek duyarlılık oranları ortaya koymuştur (11,114).

Çalışılan tüm izolatların duyarlı olarak saptandığı levofloksasine karşı yurt içi ve yurt dışı kaynaklı çalışmalar bu çalışmanın aksine %25 ile %71 gibi geniş aralıklar arasında değişen daha düşük oranlarda duyarlılıklar bildirilmiştir (11,58,113).

Yapılan çalışmada CLSI dökümanlarının önerdiği sıvı mikrodilüsyon yöntemine göre değerlendirme yapıldığında meropenem duyarlılığı %87.5 olarak saptanmış ve aynı yöntemle yapılan diğer çalışmalardaki %87 ile %100 arasında değişen duyarlılık oranlarıyla uyumluyken, ülkemizde 82 izolat ile yapılan çalışmada %50 olarak

saptanan meropenem duyarlılığından daha yüksek bir duyarlılık oranı saptanmıştır (11,58,113,115,116).

Dilüsyon yöntemi ile yapılan antimikrobiyal duyarlılık sonuçları göz önüne alındığında çalışmaya dahil edilen BCC izolatlarının %91.7 si seftazidime duyarlı olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde seftazidime duyarlı olarak saptanan olgu sunumlarının yanında direnç bildiren olgu serileride bulunmaktadır (108,109,117). Daha fazla sayıda izolatin kullanıldığı çalışmalarda %71 ile %79 arasında değişen bir duyarlılık saptanmış ve çalışmamıza göre daha düşük bir duyarlılık profili olduğu görülmüştür (58,113,115). Ülkemizde yapılan çalışmada ise çalışmaya alınan 87 BCC izolatının %23.4 oranında seftazidim duyarlılığı olduğu belirlenmiştir (113).

Yaptığımız çalışmada sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile tikarsilin- klavulanik asit duyarlılığı %6.3 olarak saptanmıştır. Literatürdeki diğer çalışmalardaki duyarlılık sonuçları %12 ve %12.9 olarak değerlendirilmiş olup BCC izolatlarının bu antibiyotiğe karşı yüksek oranlarda direnç gösterdiği belirlenmiştir (58,118).

Antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi için kullanılan dilüsyonel ve difüzyonel yöntemleri karşılaştırdığımızda; tikarsilin- klavulanik asit dışında değerlendirilen seftazidim, trimetoprim-sülfametoksazol, levofloksasin, minosiklin ve meropenem antibiyotiklerinin duyarlılık sonuçları yöntemler arasında anlamlı derecede uyum gösterdi.

İngiltere’de 155 klinik BCC izolatının kullanıldığı, duyarlılık test yöntemlerine ve inkübasyon sıcaklıklarına göre seftazidim, meropenem, minosiklin, trimetoprim-sülfametoksazol ve tikarsilin- klavulanik asit antibiyotiklerinin duyarlılık sonuçlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, disk difüzyon ve E-test yöntemlerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile aralarında zayıf bir korelasyon olduğu belirtilmiş ve özellikle klinikte sık kullanılan trimetoprim-sülfametoksazol ajanı için difüzyon yöntemlerinin yanlış sonuçlar verdiğinin üzerinde durulmuştur. Çalışmaya tikarsilin- klavulanik asit dahil edilmiş ancak çalışılan yöntemlerde tüm izolatlar dirençli olarak saptanmıştır (89).

Brezilya’ da 82 BCC izolatu üzerinde yapılan çalışmada seftazidim, trimetoprim-sülfametoksazol, levofloksasin, minosiklin ve meropenem antibiyotiklerinin

duyarlılıkları difüzyon ve dilüsyon temelli yöntemlerle belirlenmiş olup seftazidim ve trimetoprim-sülfametoksazol antibiyotikleri dışında diğer ajanların duyarlılık sonuçlarının yöntemler arasında iyi uyum gösterdiği belirtilmiştir (11).

Bu çalışmada BCC izolatlarının difüzyon ve dilüsyon yöntemleri ile antibiyotik duyarlılıkları değerlendirildiğinde sadece tikarsilin- klavulanik asit duyarlılığında yöntemler arasında literatür ile benzer şekilde uyumsuz sonuç elde edilmiştir. Yöntemler arasında saptanan uyumsuz seftazidim ve trimetoprim-sülfametoksazol antibiyotik duyarlılık sonuçları bu çalışmada saptanmamıştır.

Çalışmanın çeşitli sınırlılıkları bulunmaktadır. Heterojen popülasyonlarda tek merkezde yapılan bir çalışmadır. Analiz edilen izolat sayısının artırılması sonuçların yorumlamasını güçlendirebilir. Çalışmaya sadece yetişkin hastalar dahil edilmiş olup çalışmanın pediatrik hastalar ve özellikle kistik fibrozis gibi kronik akciğer hastalığı bulunan hastaların dahil edilmesi ile daha geniş çaplı araştırmaların yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇLAR

Bu çalışma, *Burkholderia cepacia* kompleksinin klinik açıdan önemli bir patojen olarak yüksek doğal antibiyotik direncine sahip olduğunu ve bu nedenle özellikle immünsüpre hastalarda ciddi sağlık sorunlarına yol açabileceğini ortaya koymaktadır. Çalışmada kullanılan biyokimyasal, otomatize ve moleküler tanımlama yöntemleri, bu mikroorganizmanın doğru teşhisi ve yönetimi açısından önemli olmakla birlikte, yöntemler arasındaki tutarsızlıkların tanı sürecinde sorunlara yol açabileceği görülmüştür.

Antibiyotik duyarlılık testleri de kullanılan metodolojiye göre farklı sonuçlar vermekte ve bu durum, klinik tedavi protokollerinin belirlenmesinde zorluklar yaratmaktadır. Bu bağlamda, doğru tanımlama yöntemlerinin seçimi ve standardizasyonu hem tedavi etkinliği açısından hem de dirençli suşların kontrolü açısından kritik öneme sahiptir. Gelecekteki çalışmalar, bu yöntemlerin uyumluluğunu artırmaya ve klinik uygulamalarda daha güvenilir sonuçlar elde etmeye odaklanmalıdır.

Bu çalışma ile *Burkholderia cepacia* kompleksinin mikrobiyolojik tanısının doğru ve hızlı şekilde koyulabilmesinin önündeki sorunların farkına varıp çözümleyebilmek ve en etkin tanı yöntemini belirlemek açısından önem arz etmektedir, aynı zamanda ülkemizdeki üçüncü basamak bir hastanede izole edilen BCC etkeninin tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılık profili belirlenmesi ile literatüre önemli katkılar sağlamıştır. BCC türlerinin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılığın belirlenmesi ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Rojas-Rojas FU, López-Sánchez D, Meza-Radilla G, Méndez-Canarios A, Ibarra JA, Estrada-de los Santos P. The controversial *Burkholderia cepacia* complex, a group of plant growth promoting species and plant, animals and human pathogens. *Rev Argent Microbiol.* 2019 Jan 1;51(1):84–92.
2. Li Puma J. *Burkholderia cepacia* epidemiology and pathogenesis implications for infection control. In: Lippincott. 1998. p. 337–41.
3. Gilligan PH. Infections in patients with cystic fibrosis: Diagnostic microbiology update. Vol. 34, *Clinics in Laboratory Medicine*. W.B. Saunders; 2014. p. 197–217.
4. Bahceci İ, Senol F, Dilek A, Yıldız İ. Polyclonal outbreak of bacteremia caused by *Burkholderia cepacia* in the intensive care unit. *Annals of Clinical and Analytical Medicine.* 2022;13(08).
5. Aydemir Ö, Terzi H, Karakeçe E, Köroğlu M, Aydemir Y, Çavdar G, et al. *Burkholderia Cepacia* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları ve Klinik Özelliklerinin Değerlendirilmesi. *J Biotechnol and Strategic Health Res* [Internet]. 2018;2(1):35–40. Available from: <https://orcid.org/0000-0003-4533-6934>
6. Parlak M, Cikman A, Guducuoglu H, Berktaş M, Bektas A. Resistance of *Burkholderia cepacia* Strains Isolated from Intensive Care Unit to Various Antibiotics. *ANKEM Dergisi.* 2012 Mar 15;26(1):16–9.

7. Li Puma J. BURKHOLDERIA CEPACIA: Management Issues and New Insights. Clin Chest Med. 1998 Sep;19(3):473–86.
8. Drevinek P, Mahenthiralingam E. Burkholderia cenocepacia in cystic fibrosis: Epidemiology and molecular mechanisms of virulence. Vol. 16, Clinical Microbiology and Infection. Blackwell Publishing Ltd; 2010. p. 821–30.
9. Akişoğlu Ö, Engin D, Sariçam S, Müştak HK, Şener B, Hasçelik G. Multilocus sequence analysis, biofilm production, antibiotic susceptibility and synergy tests of burkholderia species in patients with and without cystic fibrosis. Mikrobiyol Bul. 2019;53(1):22–36.
10. Vandamme P, Holmes B, Vancanneyt M, Coenye ' T, Hoste ' B, Coopman ' R, et al. Occurrence of Multiple Genomovars of Burkholderia cepacia in Cystic Fibrosis Patients and Proposal of Burkholderia multivorans sp. nov. INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY. International Union of Microbiological Societies; 1997.
11. Fehlberg LCC, Nicoletti AG, Ramos AC, Rodrigues-Costa F, de Matos AP, Girardello R, et al. In vitro susceptibility of Burkholderia cepacia complex isolates: Comparison of disk diffusion, Etest®, agar dilution, and broth microdilution methods. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016 Dec 1;86(4):422–7.
12. Horsley A, Jones AM. Antibiotic treatment for Burkholderia cepacia complex in people with cystic fibrosis experiencing a pulmonary exacerbation . In: Cochrane Database of Systematic Reviews. John Wiley & Sons, Ltd; 2012.

13. Pitt T, Simpson A. Principles and Practice of Clinical Bacteriology Second Edition. In: Principles and Practice of Clinical Bacteriology Second Edition. 2006. p. 427–43.
14. Baylan O. Bağışıklığı Baskılanmış Hastalarda Sıklıkla Saptanan Bir Fırsatçı Patojen: Burkholderia cepacia Kompleksi. Mikrobiyol Bul. 2012;46(2):304–18.
15. Lauman P, Dennis JJ. Advances in phage therapy: Targeting the Burkholderia cepacia complex. Vol. 13, Viruses. MDPI AG; 2021.
16. Shi H, Chen X, Chen L, Zhu B, Yan W, Ma X. Burkholderia cepacia infection in children without cystic fibrosis: a clinical analysis of 50 cases. Front Pediatr. 2023 Jul 6;11.
17. Devanga Ragupathi NK, Veeraraghavan B. Accurate identification and epidemiological characterization of Burkholderia cepacia complex: An update. Vol. 18, Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. BioMed Central Ltd.; 2019.
18. Gillis M, Van Van T, Bardin R, Goor M, Hebbar P, Willems A, et al. Polyphasic taxonomy in the genus Burkholderia leading to an emended description of the genus and proposition of Burkholderia vietnamiensis sp. nov. for N₂-fixing isolates from rice in Vietnam. Int J Syst Bacteriol. 1995;45(2):274–89.
19. Yurdakul P, Ergünay K, Yalçın E, Doğru D, Şener B, Çobanoğlu N, et al. Kistik Fibrozis Hastalarında Burkholderia cepacia complex İzolasyonu ve Tanımlanması. Mikrobiyol Bul. 2006;40:301–6.

20. Hales BA, Alun J, Morgan W, Hart CA, Winstanley C. Variation in Flagellin Genes and Proteins of *Burkholderia cepacia*. Vol. 180, JOURNAL OF BACTERIOLOGY. 1998.
21. Coenye T, Vandamme P, Govan JRW, Lipuma JJ. Taxonomy and identification of the *Burkholderia cepacia* complex. Vol. 39, Journal of Clinical Microbiology. 2001. p. 3427–36.
22. Samuels SB, Moss A N CW. The Fatty Acids of *Pseudomonas multivorans* (*Pseudomonas cepacia*) and *Pseudomonas kingii*. Vol. 74, Journal of General Microbiology. 1973.
23. Ballard RW, Palleroni NJ, Duodorof M, Mandel M. Taxonomy of the Aerobic *Pseudomonads*: *Pseudomonas cepacia*, *Pa marginata*, *P. alliicola* and *Pa caryophylli*. Vol. 970, J. gen. Microbiol. 1970.
24. Hotta H, Yano I, Yabuuchi E, Kosako Y, Oyaizu H, Ezaki T, et al. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. And Transfer of Seven Species of the Genus *Pseudomonas* Homology Group II to the New Genus, with the Type Species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb: Nov. Microbiol Immunol. 1992;36(12):1251–75.
25. Yohalem D, Lorbeer JW. Multilocus Isoenzyme Diversity Among Strains of *Pseudomonas cepacia* isolated from Decayed Onions, Soils, and Clinical Sources. Syst Appl Microbiol. 1994;17:116–24.
26. Bach E, Sant'Anna FH, dos Passos JFM, Balsanelli E, de Baura VA, Pedrosa F de O, et al. Detection of misidentifications of species from the *Burkholderia*

cepacia complex and description of a new member, the soil bacterium *Burkholderia catarinensis* sp. nov. Pathog Dis. 2017 Aug 31;75(6).

27. Coenye T, Lipuma JJ, Henry D, Hoste B, Vandemeulebroecke K, Gillis M, et al. *Burkholderia cepacia* genomovar VI, a new member of the *Burkholderia cepacia* complex isolated from cystic fibrosis patients [Internet]. Vol. 51, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2001. Available from: www.sgmjournals.org
28. Coenye T, Laevens S, Willems A, Ohlen M, Hannant W. *Burkholderia fungorum* sp. nov. and *Burkholderia caledonica* sp. nov., two new species isolated from the environment, animals and human clinical samples. Int J Syst Evol Microbiol. 2001;51:1099–107.
29. Sfeir MM. *Burkholderia cepacia* complex infections: More complex than the bacterium name suggest. Vol. 77, Journal of Infection. W.B. Saunders Ltd; 2018. p. 166–70.
30. de Vienne DM. PLOS Biology 14(12):e2001624. 2016 [cited 2024 Aug 20]. Lifemap: Exploring the Entire Tree of Life. Available from: <https://lifemap-ncbi.univ-lyon1.fr/>
31. Liao CH, Chang HT, Lai CC, Huang YT, Hsu MS, Liu CY, et al. Clinical characteristics and outcomes of patients with *Burkholderia cepacia* bacteremia in an intensive care unit. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011 Jun;70(2):260–6.
32. Seelman SL, Bazaco MC, Wellman A, Hardy C, Fatica MK, Huang MCJ, et al. *Burkholderia cepacia* complex outbreak linked to a no-rinse cleansing foam product, United States - 2017-2018. Epidemiol Infect. 2022 Aug 4;150.

33. Silmon T, Chapman D. What's in Your Bottle Investigating a Pseudo-outbreak of *Burkholderia cepacia*. *American Journal of Infection Control*. 2019;47:S2–14.
34. Becker SL, Berger FK, Feldner SK, Karlova I, Haber M, Mellmann A, et al. Outbreak of *Burkholderia cepacia* complex infections associated with contaminated octenidine mouthwash solution, Germany, August to September 2018. *Eurosurveillance*. 2018 Oct 18;23(42).
35. Tüfekci S, Şafak B, Nalbantoğlu B, Samancı N, Kiraz N. *Burkholderia cepacia* complex bacteremia outbreaks among non-cystic fibrosis patients in the pediatric unit of a university hospital. *Turkish Journal of Pediatrics*. 2021;63(2):218–22.
36. Bilgin H, Altınkanat Gelmez G, Bayrakdar F, Sayın E, Gül F, Pazar N, et al. An outbreak investigation of *Burkholderia cepacia* infections related with contaminated chlorhexidine mouthwash solution in a tertiary care center in Turkey. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2021 Dec 1;10(1).
37. Zolin A, Adamoli A, Bakkeheim E, van Rens J et al,. ECFSPR Annual Report 2022. 2022 [cited 2024 Aug 20]. ECFSPR Annual Report 2022. Available from: <https://www.ecfs.eu/projects/ecfs-patient-registry/annual-reports>
38. Baldwin A, Mahenthiralingam E, Drevinek P, Vandamme P, Govan JR, Wayne DJ, et al. Environmental *Burkholderia cepacia* Complex Isolates in Human Infections. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2007;13:458–61. Available from: www.cdc.gov/eid

39. Mahenthiralingam E, Vandamme P. Taxonomy and pathogenesis of the *Burkholderia cepacia* complex [Internet]. Vol. 2, Chronic Respiratory Disease. 2005. Available from: www.CRDjournal.com
40. Sousa SA, Feliciano JR, Pita T, Guerreiro SI, Leitão JH. *Burkholderia cepacia* complex regulation of virulence gene expression: A review. Vol. 8, Genes. MDPI AG; 2017.
41. Chernish RN, Aaron SD. Approach to resistant gram-negative bacterial pulmonary infections in patients with cystic fibrosis. In: Lippincott. 2003. p. 509–15.
42. Rhodes KA, Schweizer HP. Antibiotic resistance in *Burkholderia* species. Drug Resistance Updates. 2016 Sep 1;28:82–90.
43. Podnecky NL, Rhodes KA, Schweizer HP. Efflux pump-mediated drug resistance in *Burkholderia*. Front Microbiol. 2015;6(MAR):1–25.
44. Loutet SA, Valvano MA. Extreme antimicrobial peptide and polymyxin B resistance in the genus *Burkholderia*. Vol. 1, Frontiers in cellular and infection microbiology. 2011. p. 6.
45. Malott RJ, Wu CH, Lee TD, Hird TJ, Dalleska NF, Zlosnik JEA, et al. Fosmidomycin decreases membrane hopanoids and potentiates the effects of colistin on *Burkholderia multivorans* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(9):5211–9.

46. Parr TR, Moore RA, Moore L V, Hancock REW. Role of Porins in Intrinsic Antibiotic Resistance of *Pseudomonas cepacia* [Internet]. Vol. 31, ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY. 1987. Available from: <https://journals.asm.org/journal/aac>
47. Pope CF, Gillespie SH, Pratten JR, McHugh TD. Fluoroquinolone-resistant mutants of *Burkholderia cepacia*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Mar;52(3):1201–3.
48. Burns JL, Lien DM, Hedin LA. Isolation and Characterization of Dihydrofolate Reductase from Trimethoprim-Susceptible and Trimethoprim-Resistant *Pseudomonas cepacia* [Internet]. Vol. 33, ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY. 1989. Available from: <https://journals.asm.org/journal/aac>
49. Hutchinson GR, Parker S, Pryor JA, Duncan-Skingle F, Hoffman PN, Hodson ME, et al. Home-Use Nebulizers: a Potential Primary Source of *Burkholderia cepacia* and Other Colistin-Resistant, Gram-Negative Bacteria in Patients with Cystic Fibrosis. Vol. 34, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY. 1996.
50. Urban TA, Griffith A, Torok AM, Smolkin ME, Burns JL, Goldberg JB. Contribution of *Burkholderia cenocepacia* flagella to infectivity and inflammation. *Infect Immun*. 2004 Sep;72(9):5126–34.
51. Josenhans C, Suerbaum S. The role of motility as a virulence factor in bacteria. *International Journal of Medical Microbiology* [Internet]. 2002;291:605–14. Available from: <http://www.urbanfischer.de/journals/ijmm>

52. Ganesan S, Sajjan US. Host evasion by *Burkholderia cenocepacia*. Vol. 1, *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2011. p. 25.
53. Walker SL. The role of nutrient presence on the adhesion kinetics of *Burkholderia cepacia* G4g and ENV435g. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2005 Nov 10;45(3–4):181–8.
54. Estevens R, Mil-Homens D, Fialho AM. In-Silico Analysis Highlights the Existence in Members of *Burkholderia cepacia* Complex of a New Class of Adhesins Possessing Collagen-like Domains. *Microorganisms*. 2023 May 1;11(5).
55. Urban TA, Goldberg JB, Forstner JF, Sajjan US. Cable pili and the 22-kilodalton adhesin are required for *Burkholderia cenocepacia* binding to and transmigration across the squamous epithelium. *Infect Immun*. 2005 Sep;73(9):5426–37.
56. Dennehy R, Romano M, Ruggiero A, Mohamed YF, Dignam SL, Mujica Troncoso C, et al. The *Burkholderia cenocepacia* peptidoglycan-associated lipoprotein is involved in epithelial cell attachment and elicitation of inflammation. *Cell Microbiol*. 2017 May 1;19(5).
57. Mil-Homens D, Fialho AM. Trimeric autotransporter adhesins in members of the *Burkholderia cepacia* complex: A multifunctional family of proteins implicated in virulence. *Front Cell Infect Microbiol*. 2011 Dec 7;1.
58. Karthikeyan R, Singh BR, Yadav A, Agri H, Jayakumar V, OR V, et al. Antimicrobial Susceptibility Testing and Biofilm Production of *Burkholderia*

cepacia Complex Organisms from Ultrasound Gels in India. *Acta Scientific Microbiology*. 2023 Feb 1;6(2):27–36.

59. Peeters E, Nelis HJ, Coenye T. Evaluation of the efficacy of disinfection procedures against *Burkholderia cenocepacia* biofilms. *Journal of Hospital Infection*. 2008 Dec;70(4):361–8.
60. Murphy MP, Caraher E. Residence in biofilms allows *Burkholderia cepacia* complex (Bcc) bacteria to evade the antimicrobial activities of neutrophil-like dHL60 cells. *Pathog Dis*. 2015 Nov 1;73(8):ftv069.
61. Shimomura H, Matsuura M, Saito S, Hirai Y, Isshiki Y, Kawahara K. Unusual interaction of a lipopolysaccharide isolated from *Burkholderia cepacia* with polymyxin B. *Infect Immun*. 2003 Sep 1;71(9):5225–30.
62. Leitão JH, Sousa SA, Ferreira AS, Ramos CG, Silva IN, Moreira LM. Pathogenicity, virulence factors, and strategies to fight against *Burkholderia cepacia* complex pathogens and related species. Vol. 87, *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2010. p. 31–40.
63. Adebajo SO, Bankole PO, Ojo AE, Ajibola AT, Ojesola CO, Akintokun AK. Synthesis of biosurfactants by bacterial cells: Heavy-metals tolerance and siderophores. *Sci Afr*. 2023 Nov 1;22.
64. Thomas MS. Iron acquisition mechanisms of the *Burkholderia cepacia* complex. In: *BioMetals*. Springer Netherlands; 2007. p. 431–52.

65. Cunha M V., Sousa SA, Leitão JH, Moreira LM, Videira PA, Sá-Correia I. Studies on the involvement of the exopolysaccharide produced by cystic fibrosis-associated isolates of the *Burkholderia cepacia* complex in biofilm formation and in persistence of respiratory infections. *J Clin Microbiol.* 2004 Jul;42(7):3052–8.
66. Ferreira AS, Leitão JH, Silva IN, Pinheiros PF, Sousa SA, Ramos CG, et al. Distribution of cepacian biosynthesis genes among environmental and clinical *Burkholderia* strains and role of cepacian exopolysaccharide in resistance to stress conditions. *Appl Environ Microbiol.* 2010 Jan;76(2):441–50.
67. Green ER, Mecsas J. Bacterial Secretion Systems: An Overview. *Microbiol Spectr.* 2016 Jan 29;4(1).
68. Depluvere S, Devos S, Devreese B. The Role of Bacterial Secretion Systems in the Virulence of Gram-Negative Airway Pathogens Associated with Cystic Fibrosis. Vol. 7, *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2016.
69. Wallner A. Genetic Diversity of Type 3 Secretion System in *Burkholderia* s.l. and Links With Plant Host Adaptation. *Front Microbiol.* 2021 Oct 20;12.
70. Loeven NA, Perault AI, Cotter PA, Hodges CA, Schwartzman JD, Hampton TH, et al. The *Burkholderia cenocepacia* Type VI Secretion System Effector TecA Is a Virulence Factor in Mouse Models of Lung Infection. *mBio.* 2021 Oct 1;12(5).
71. Avgeri SG, Matthaïou DK, Dimopoulos G, Grammatikos AP, Falagas ME. Therapeutic options for *Burkholderia cepacia* infections beyond co-

trimoxazole: a systematic review of the clinical evidence. Vol. 33, International Journal of Antimicrobial Agents. 2009. p. 394–404.

72. Gautam V, Ray P, Vandamme P, Chatterjee S, Das A, Sharma K, et al. Identification of lysine positive non-fermenting gram negative bacilli (*Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia* complex). Indian J Med Microbiol. 2009 Apr 1;27(2):128–33.
73. Henry D, Campbell M, Mcgimpsey C, Clarke A, Loudon L, Burns JL, et al. Comparison of Isolation Media for Recovery of *Burkholderia cepacia* Complex from Respiratory Secretions of Patients with Cystic Fibrosis [Internet]. Vol. 37, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY. 1999. Available from: <https://journals.asm.org/journal/jcm>
74. Kiska DL, Kerr A, Jones MC, Caracciolo JA, Eskridge B, Jordan M, et al. Accuracy of Four Commercial Systems for Identification of *Burkholderia cepacia* and Other Gram-Negative Nonfermenting Bacilli Recovered from Patients with Cystic Fibrosis. Vol. 34, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY. 1996.
75. Brisse S, Stefani S, Verhoef J, Van Belkum A, Vandamme P, Goessens W. Comparative evaluation of the BD Phoenix and VITEK 2 automated instruments for identification of isolates of the *Burkholderia cepacia* complex. J Clin Microbiol. 2002;40(5):1743–8.
76. Tsuchida S, Umemura H, Nakayama T. Current status of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical diagnostic microbiology. Vol. 25, Molecules. MDPI AG; 2020.

77. Wong KSK, Dhaliwal S, Bilawka J, Srigley JA, Champagne S, Romney MG, et al. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight MS for the accurate identification of *Burkholderia cepacia* complex and *Burkholderia gladioli* in the clinical microbiology laboratory. *J Med Microbiol.* 2020;69(8):1105–13.
78. McDowell A, Mahenthiralingam E, Moore JE, Dunbar KEA, Webb AK, Dodd ME, et al. PCR-based detection and identification of *Burkholderia cepacia* complex pathogens in sputum from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol.* 2001;39(12):4247–55.
79. Furlan JPR, Pitondo-Silva A, Braz VS, Gallo IFL, Stehling EG. Evaluation of different molecular and phenotypic methods for identification of environmental *Burkholderia cepacia* complex. *World J Microbiol Biotechnol.* 2019 Mar 1;35(3).
80. Vandamme P, Dawyndt P. Classification and identification of the *Burkholderia cepacia* complex: Past, present and future. *Syst Appl Microbiol.* 2011 Apr;34(2):87–95.
81. Pot B, Vandamme P, Kersters K. Analysis of electrophoretic whole organism protein fingerprints. In: Goodfellow M, O'Donnell A, editors. *Modern Microbiological Methods series*. 1994. p. 493–521.
82. Jin Y, Zhou J, Zhou J, Hu M, Zhang Q, Kong N, et al. Genome-based classification of *Burkholderia cepacia* complex provides new insight into its taxonomic status. *Biol Direct.* 2020 Mar 4;15(1).

83. Richter M, Rosselló -Mó ra R. Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. National Academy of Sciences [Internet]. 2009;106(45):19126–31. Available from: [www.pnas.org/cgi/content/full/](http://www.pnas.org/cgi/content/full/2009;106(45):19126-31)
84. Gajic I, Kabic J, Kekic D, Jovicevic M, Milenkovic M, Mitic Culafic D, et al. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. Vol. 11, Antibiotics. MDPI; 2022.
85. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). [Internet]. 2024. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0,2024.
86. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [Internet]. 2024. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-seventh Informational Supplement. M100-E33, 2023.
87. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Vol. 6, Journal of Pharmaceutical Analysis. Xi'an Jiaotong University; 2016. p. 71–9.
88. Le Page S, Dubourg G, Rolain JM. Evaluation of the Scan ® 1200 as a rapid tool for reading antibiotic susceptibility testing by the disc diffusion technique. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2016;71(12):3424–31.
89. Benkova M, Soukup O, Marek J. Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. Vol. 129, Journal of Applied Microbiology. John Wiley and Sons Inc; 2020. p. 806–22.

90. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices. Vol. 49, *Clinical Infectious Diseases*. 2009. p. 1749–55.
91. Chen W ping, Kuo T teh. A simple and rapid method for the preparation of gram-negative bacterial genomic DNA. Vol. 21, *Nucleic Acids Research*. 1993. p. 2260.
92. Mahenthiralingam E, Bischof J, Bryne SK, Radomski C, Davies JE, Av-Gav Y, et al. DNA-Based Diagnostic Approaches for Identification of. *J Clin Microbiol*. 2000;38(9):3165–73.
93. Lambiase A, Raia V, Del Pezzo M, Sepe A, Carnovale V, Rossano F. Microbiology of airway disease in a cohort of patients with Cystic Fibrosis. *BMC Infect Dis*. 2006 Jan 30;6(4).
94. Murray S, Charbeneau J, Marshall BC, LiPuma JJ. Impact of *Burkholderia* infection on lung transplantation in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Aug 15;178(4):363–71.
95. Alby K, Gilligan PH, Miller MB. Comparison of matrix-Assisted laser Desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry platforms for the identification of gram-negative rods from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol*. 2013;51(11):3822–54.
96. Fehlberg LCC, Andrade LHS, Assis DM, Pereira RHV, Gales AC, Marques EA. Performance of MALDI-ToF MS for species identification of *Burkholderia cepacia* complex clinical isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013 Oct;77(2):126–8.

97. Gautam V, Sharma M, Singhal L, Kumar S, Kaur P, Tiwari R, et al. MALDI-TOF mass spectrometry: An emerging tool for unequivocal identification of non-fermenting Gram-negative bacilli. *Indian Journal of Medical Research*. 2017 May 1;145(May):665–72.
98. Wong SCY, Wong SC, Chen JHK, Poon RWS, Hung DLL, Chiu KHY, et al. Polyclonal burkholderia cepacia complex outbreak in peritoneal dialysis patients caused by contaminated aqueous chlorhexidine. *Emerg Infect Dis*. 2020 Sep 1;26(9):1987–97.
99. Kenna DTD, Lilley D, Coward A, Martin K, Perry C, Pike R, et al. Prevalence of burkholderia species, including members of burkholderia cepacia complex, among UK cystic and non-cystic fibrosis patients. *J Med Microbiol*. 2017 Apr 1;66(4):490–501.
100. El Chakhtoura NG, Saade E, Wilson BM, Perez F, Papp-Wallace KM, Bonomo RA. A 17-year nationwide study of burkholderia cepacia complex bloodstream infections among patients in the United States Veterans Health Administration. *Clinical Infectious Diseases*. 2017 Oct 1;65(8):1327–34.
101. Özdemir YE, Kaplan-Yazar B, Borcak D, Canpolat-Unlu E, Bayramlar OF, Cizmeci Z, et al. Antimicrobial Susceptibility Profiles and Key Determinants for Mortality in Burkholderia cepacia Complex Infections. *Infectious Diseases and Clinical Microbiology*. 2023 Sep 30;5(3):239–50.
102. Dizbay M, Guzel Tunccan O, Ergut Sezer B, Aktas F, Arman D. Nosocomial Burkholderia cepacia infections in a Turkish university hospital: a five-year

surveillance. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2009;3(4):273–7.

103. Kumaresan M, Manoharan M, Sugumar M, Sistla S. Species distribution and antimicrobial susceptibility of *Burkholderia cepacia* complex isolates in clinical infections: Experience from a tertiary care hospital, Southern India. *Indian J Med Microbiol*. 2024 May 1;49.
104. Zhong H, Wang Y, Shi Z, Zhang L, Ren H, He W, et al. Characterization of respiratory microbial dysbiosis in hospitalized COVID-19 patients. *Cell Discov*. 2021 Dec 1;7(1).
105. Häfliger E, Atkinson A, Marschall J. Systematic review of healthcare-associated *Burkholderia cepacia* complex outbreaks: presentation, causes and outbreak control. *Infection Prevention in Practice*. 2020 Sep 1;2(3).
106. Righi E, Girardis M, Marchegiano P, Venturelli C, Tagliazucchi S, Pecorari M, et al. Characteristics and outcome predictors of patients involved in an outbreak of *Burkholderia cepacia* complex. *Journal of Hospital Infection*. 2013 Sep;85(1):73–5.
107. Akbaş E, Keskin BH, Kayman H, Yekenkurul D, Çalışkan E, Öksüz Ş, et al. Çok İlaca Dirençli Gram Negatif Bakterilerdeki Seftazidim-Avibaktam Duyarlılığının Araştırılması. *ANKEM Dergisi*. 2023 Dec 31;37(3):103–8.
108. Nguyen TT, Condren M, Walter J. Ceftazidime-avibactam for the treatment of multidrug resistant *Burkholderia cepacia* complex in a pediatric cystic fibrosis patient. Vol. 55, *Pediatric Pulmonology*. John Wiley and Sons Inc.; 2020. p. 283–4.

109. Papp-Wallace KM, Becka SA, Zeiser ET, Ohuchi N, Mojica MF, Gatta JA, et al. Overcoming an Extremely Drug Resistant (XDR) Pathogen: Avibactam Restores Susceptibility to Ceftazidime for *Burkholderia cepacia* Complex Isolates from Cystic Fibrosis Patients. *ACS Infect Dis*. 2017 Jul 14;3(7):502–11.
110. Spoletini G, Etherington C, Shaw N, Clifton IJ, Denton M, Whitaker P, et al. Use of ceftazidime/avibactam for the treatment of MDR *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* complex infections in cystic fibrosis: A case series. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2019 May 1;74(5):1425–9.
111. Tamma PD, Fan Y, Bergman Y, Sick-Samuels AC, Hsu AJ, Timp W, et al. Successful treatment of persistent *Burkholderia cepacia* complex bacteremia with ceftazidime-avibactam. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018 Apr 1;62(4).
112. Wootton M, Davies L, Pitman K, Howe RA. Evaluation of susceptibility testing methods for *Burkholderia cepacia* complex: a comparison of broth microdilution, agar dilution, gradient strip and EUCAST disc diffusion. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021 May 1;27(5):788.e1-788.e4.
113. Chang TH, Chuang YC, Wang JT, Sheng WH. Clinical characteristics and outcomes of non-cystic fibrosis patients with *Burkholderia cepacia* complex bacteremia at a medical center in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2022 Dec 1;55(6):1301–9.

114. Shortridge D, Arends SJR, Streit JM, Castanheira M. Minocycline Activity against Unusual Clinically Significant Gram-Negative Pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2021;65(11). Available from: <https://doi.org/10>
115. Chien YC, Liao CH, Sheng WH, Chien JY, Huang YT, Yu CJ, et al. Clinical characteristics of bacteraemia caused by *Burkholderia cepacia* complex species and antimicrobial susceptibility of the isolates in a medical centre in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents*. 2018 Mar 1;51(3):357–64.
116. Medina-Pascual MJ, Valdezate S, Villalón P, Garrido N, Rubio V, Saéz-Nieto JA. Identification, molecular characterisation and antimicrobial susceptibility of genomovars of the *Burkholderia cepacia* complex in Spain. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2012 Dec;31(12):3385–96.
117. Beca FA, Sengillo JD, Robles-Holmes HK, Iyer PG, Miller D, Yannuzzi NA, et al. Endophthalmitis caused by *Burkholderia cepacia* complex (BCC): clinical characteristics, antibiotic susceptibilities, and treatment outcomes. *J Ophthalmic Inflamm Infect*. 2023 Dec 1;13(1).
118. Patel D, Mavani M, Parmar K, Javadekar T, Lakhani S, Doctor R. Antibiotic Sensitivity Pattern of *Burkholderia cepacia* complex in blood stream infections in a tertiary care hospital. *International Archives of Integrated Medicine* [Internet]. 2024;11(2):18–21. Available from: <http://iaimjournal.com/>

8. ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Yunus Emre ALPDOĞAN

Doğum yeri ve tarihi: Gaziantep / 1993

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

II- Eğitimi

Gaziantep Anadolu Lisesi 2007-2011

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi 2012-2019

Recep Tayyip Erdoğan Üni. Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji 2020-2024

III- Mesleki Deneyimi

Kilis 112 Komuta Kontrol Merkezi (Ekim 2019-Temmuz 2020)

Recep Tayyip Erdoğan Üni. Eğitim ve Arş. Hastanesi Temmuz 2020-Devam ediyor

9. EKLER

EK 1. Etik kurul karar yazısı



T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı



Sayı : E-40465587-050.01.04-894
Konu : Etik Kurul

12.12.2023

Sayın Dr.Öğr.Üyesi İlkey BAHÇECİ

Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna yapmış olduğunuz “**Burkholderia Cepacia Complex Türlerinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılığı**” isimli başvurunuz etik kurulumuz yönergesine göre 06.12.2023 tarihinde yapmış olduğu toplantıda incelenmiş olup, 2023/272 karar numarası ile bilimsel ve etik yönden uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini saygılarımla rica ederim.

Doç. Dr. Tahsin Gökhan TELATAR
Başkan

Bu belge güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu : 25afe1e4794a

Belge Takip Adresi: <http://ebys.erdogan.edu.tr/EBYS/eimzadogrulama>

Fener Mah. Zihni Derin Yerleşkesi 53100 Rize / TÜRKİYE
Telefon No : +90 (464) 223 61 26 Faks No : +90 (464) 223 53 76
e-Posta : Internet.Adresi:http://www.erdogan.edu.tr/
Kep Adresi:

Bilgi için : BURAK HANKAYA
Bilgisayar İşletmen





