



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİSTİK FİBROZLU HASTALARIN SOLUNUM YOLU ETKENLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI

Aynure ALİSHOVA

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ

II. DANIŞMAN  
Dr. Öğr. Üyesi Kübra CAN KURT

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Mikrobiyoloji, Tezli Yüksek Lisans Programı

Aralık, 2024

## TEZ KABUL VE ONAYI

Aynure ALİSHOVA tarafından, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ danışmanlığında hazırlanan " KİSTİK FİBROZLU HASTALARIN SOLUNUM YOLU ETKENLERİNİN ARAŞTIRILMASI " başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 05/12/2024 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Tez Jürisi

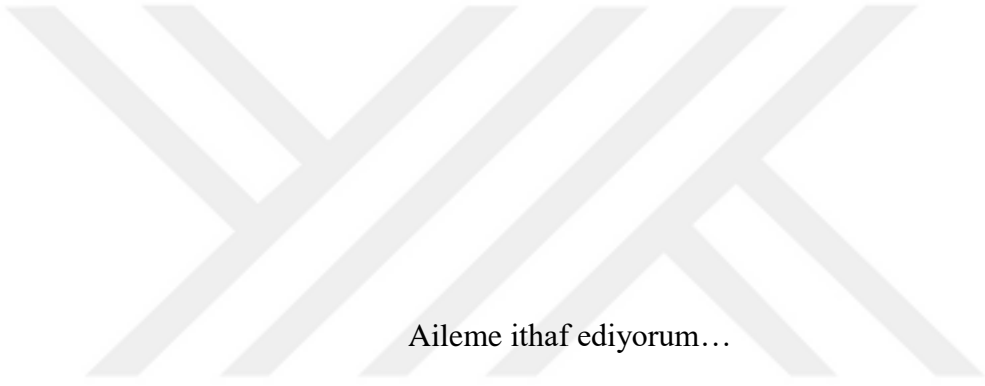
	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKMAN İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Prof. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU İstanbul Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR İstanbul Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖNEL İstanbul Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

Aynure ALİSHOVA

(İmza)



Aileme ithaf ediyorum...

## **BÜTÇE DESTEKLERİ**

### **KİSTİK FİBROZLU HASTALARIN SOLUNUM YOLU ETKENLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 37752

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimi ve tez çalışmalarım boyunca deneyim ve rehberliğiyle bana her zaman destek olan, ilgi ve sabrını esirgemeyen, samimi destekleriyle her zaman yanımda olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ'ye, ek danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Kübra CAN KURT'a ve yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr.Ayşe Ayzıt Kılınç SAKALLI'ya

Eğitim ve öğretim hayatım boyunca değerli bilgi ve deneyimlerini bana aktararak gelişmemde katkıda bulunan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI'ya gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince bilgilerini hiçbir zaman esirgemeyen, yetişmemde emekleri olan Anabilim Dalımızın kıymetli hocaları Sayın Prof. Dr. Bekir S. KOCAZEYBEK'e, Prof. Dr. Arif KAYGUSUZ'a, Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR'a, Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKMAN'a, Prof. Dr. Sevgi ERGİN'e, Prof.Dr. Erdal POLAT'a, Prof. Dr. Nuri KİRAZ'a, Prof. Dr.Murat HÖKELEK, Doç. Dr. A. Suat SARIBAŞ'a, Doç. Dr. Yavuz UYAR'a saygı ve rahmetle andığımız Prof. Dr. Kenan MİDİLLİ'ye,

Her koşulda hayatımın her döneminde bana olan güvenlerini, sevgilerini ve desteklerini sonuna kadar hissettiğim, her zaman arkamda duran canım annem Gülnar Alışova ve babam Rasim Alışov, sevgisini her zaman hiss ettiğim biricik kardeşim Samir Alışov ve sevgili anneannem Qemer İsbendiyarova'ya

Okul döneminden hayatımın her anında yanımda olan ve tez dönemimde bana hep destek olan canım arkadaşım değerli MSc.Hatice Nerimanova'ya

Yüksek Lisans eğitimim boyunca her zaman desteklerini hiss ettiğim değerli ekip arkadaşlarım MSc. Sevinc Hajiyeva, MSc. Aytac Süleymanova'ya, ve tez dönemi boyunca yardımlarını esirgemeyen PhD Edip Tokuç'a Laboratuvarımızın tüm personel ekibine, yüksek lisans eğitimi ve tez döneminde desteklerini benden esirgemeyen, sevgili sekreterimiz Tuba Soysal Mumcu'ya teşekkür ederim.

Aralık 2024

**Aynure ALİSHOVA**

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN .....	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ .....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ .....	x
TABLO LİSTESİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ .....	xii
ÖZET .....	xiii
ABSTRACT .....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE .....	3
2.1 Kistik Fibrozis .....	3
2.1.1. Tarihçe.....	4
2.1.2. Patogenez.....	5
2.2. Kistik Fibrozis Hastalarında Sık Rastlanan Solunum Yolu Patojenler .....	7
2.2.1. Stafilokoklar.....	7
2.2.1.1. S.aureus'un KF'deki yeri.....	7
2.2.1.2. S. aureus KF'da virülansı.....	8
2.2.1.3. Patogenez.....	11
2.2.1.4. Yaptığı Hastalıklar.....	11
2.2.2. Pseudomonas aeruginosa.....	11
2.2.2.1. P. aeruginosa'nın KF'deki yeri .....	12
2.2.2.3. P. aeruginosa'nın Sebep Olduğu Hastalıklar.....	14
2.2.3. Haemophilus influenzae.....	14

2.2.3.1. Patojenitesi ve Patogenez.....	16
2.2.3.2. Epidemiyoloji.....	16
2.2.3.3. Dirençlilik.....	16
2.2.3.4. Yaptığı Hastalıklar.....	16
2.2.4. Enterobacteriaceae.....	17
2.2.5. Burkholderia cepacia Kompleksi.....	17
2.2.5.1. Kistik Fibrozis (KF) ile İlişkisi.....	18
2.2.6. Stenotrophomonas maltophilia.....	18
2.2.7. Acinetobacter.....	18
2.3. Kistik Fibrozis Hastalığında Tanı Metotları.....	19
2.3.1. Yeni doğan taramaları.....	19
2.3.2. Ter Testi.....	19
2.3.3. Mutasyon analizi.....	20
2.4. Klinik Bulgular.....	21
2.5. Kistik Fibrozis Hastalığının Epidemiyolojisi.....	22
2.6. Kistik Fibrozis Hastalığının Tedavisi.....	22
2.6.1. Akciğer Hastalığı Tedavisi.....	23
2.7. Bakteriyofaj ve KF ile ilişkisi.....	23
2.7.1. Akciğer Enfeksiyonlarında Faj Tedavisi.....	25
<b>3. YÖNTEM.....</b>	<b>26</b>
3.1 KULLANILAN ARAÇ ve GEREÇLER.....	26
3.1.2. Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması.....	27
3.2 Yöntemler.....	27
3.2.1. Bakterilerin Tanımlanması.....	27

3.2.2. Konvansiyonel yöntemler.....	28
3.2.2.1. Kültür Yöntemleri.....	28
3.1.3. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	28
3.2.3. Otomatize yöntem.....	28
3.3. Faj izolasyonu.....	29
3.4. Faj genom analizi.....	30
3.5. İstatistiksel Analiz.....	30
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>31</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>46</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>50</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>51</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>558</b>
<b>İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI .....</b>	<b>66</b>
<b>ETİK KURUL İZİN YAZISI .....</b>	<b>68</b>
<b>KURUM İZİN YAZILARI.....</b>	<b>69</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>70</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa No

Şekil 4.1. KF hastalarının cinsiyete göre dağılımı.....	31
Şekil 4.2. Hasta sayının üreyen mikroorganizma sayısı ile ilişkisi.....	32
Şekil 4.3. Hasta örneklerinde üreyen bakteri türlerinin dağılımı.....	32
Şekil 4.4. Mannitol agar besiyerinde <i>Staphylococcus aureus</i> görüntüsü.....	33
Şekil 4.5. Mannitol agar besiyerinde koagülaz negatif stafilokok (KNS) görüntüsü.....	34
Şekil 4.6. <i>Burkholderia cepacia</i> selektif besiyerinde üreme.....	34
Şekil 4.7. <i>P. aeruginosa</i> 'nın suşlarında görülen mukoid formu.....	36
Şekil 4.8. Petride faj lizisi görüntüsü.....	40
Şekil 4.9. Faj 2 Filogenetik ağaç.....	41
Şekil 4.10 Faj 2 ile NC026599 ile tüm genom karşılaştırılması.....	42
Şekil 4.11 Faj 2'nin genom haritası.....	42
Şekil 4.12 Faj 1 filogenetik ağaç.....	43
Şekil 4.13 Faj 1 ile NC004629 ile tüm genom karşılaştırılması.....	43
Şekil 4.14 Faj 1'in genom haritası.....	44

## TABLO LİSTESİ

Sayfa No

<b>Tablo 4.1.</b> Kistik Fibrozisli Hastaların Yaş Gruplarına Göre Yatan ve Ayaktan Hasta Dağılımı.....	33
<b>Tablo 4.2.</b> Staphylococcus aureus suşlarında çeşitli antibiyotiklere karşı antibiyotik direnç oranları.....	35
<b>Tablo 4.3.</b> Pseudomonas aeruginosa suşlarında çeşitli antibiyotiklere karşı antibiyotik direnç oranları.....	35
<b>Tablo 4.4.</b> <i>P.aeruginosa</i> 'da ki-kare testi sonucu.....	37
<b>Tablo 4.5</b> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> suçları direnç grafiği.....	38
<b>Tablo 4.6.</b> <i>S.aureus</i> 'da ki-kare testi sonucu.....	38
<b>Tablo 4.7</b> <i>Staphylococcus aureus</i> suçları direnç grafiği.....	39

## SİMGE VE KISALTIMA LİSTESİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$\mu$	: Mikro
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat Derece

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>KF</b>	: Kistik Fibrozis
<b>KFTR</b>	: Kistik Fibrozis Transmembran Regülatör
<b>Cl</b>	: Klor
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>RNA</b>	: Ribo Nükleik Asit
<b>MRSA</b>	: Metisiline dirençli Staphylococcus aureus
<b>MRSSA</b>	: Metisiline duyarlı Staphylococcus aureus
<b>KKV</b>	: Küçük Koloni Varyantı
<b>GİS</b>	: Gastrointestinal Sistem
<b>KOAH</b>	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
<b>CRF</b>	: Koagülaz Reaksiyon Faktörü
<b>MDR</b>	: Çok ilaca dirençli
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>BOS</b>	: Beyin Omurilik Sıvısı
$\mu\text{L}$	: Mikrolitre
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>TSA</b>	: Tryptic Soy Agar
<b>TSB</b>	: Tryptic Soy Broth

## ÖZET

### [YÜKSEK LİSANS TEZİ]

#### [KİSTİK FİBROZLU HASTALARIN SOLUNUM YOLU ETKENLERİNİN ARAŞTIRILMASI]

[Aynure ALİSHOVA]

**İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa**

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**

**Tıbbi Mikrobiyoloji, Tezli Yüksek Lisans Programı**

[Danışman : Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ

II. Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Kübra CAN KURT ]

[Kistik fibrozis (KF) beyaz ırkta en çok görülen, otozomal resesif kalıtım gösteren genetik bir hastalıktır. KF hastalarında mortalitenin en önemli nedeni, sık görülen akciğer enfeksiyonlarıdır. Mukozadaki genetik bir bozukluk, farklı mikroorganizmaların öncelikle üst solunum yolunda, ardından alt solunum yolunda kolonize olmasına yol açar. Bu çalışma da 100 hasta örneği ile çalışılmış, bunlardan 19 hastanın örneğinden ya hiç bakteri üremedi ya da sadece flora bakterileri üredi. Bu KF'li hastaların 54'ü (%54) kadın, 46'sı (%46) erkekti. Kadın/Erkek oranları 1,17'dir. Çalışmamızda bakteriyel solunum yolu patojenleri saptandı. Bu patojenlerin antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı. Çalışmaya aldığımız örneklerden 68'i balgam örneği, 32'i ise transtrakeal aspirasyon örneği olarak kabul edildi. Pozitif bakteri kültürlerinden %49,38 *S.aureus*, %32,09 *P.aeruginosa*, %16,04 *Moraxella*, %6,17 *S.pneumoniae*, %1,23 *B.cepacia*, %1,23 *E.coli*, %7,40 *H.influenzae*, %4,93 *Corynebacterium* ve %1,23 *Klebsiella pneumoniae* üredi. Çalışmamızda en çok *S.aureus* ve *P.aeruginosa* izole edildi. *S. aureus* izolatlarından 13'ü MRSA olarak saptanmıştır. Burada en yüksek direnç oranı eritromisine (%50) karşı bulunmuştur. *P. aeruginosa* izolatlarında ise en etkili antibiyotik meropenem

olduğu görüldü. İzole edilmiş *P. aeruginosa* suşlarından 10 izolatın mukoid yapıda olduğu saptandı. *S. aureus* ve *P.aeruginosa*'da ele alınan 2 yaş grubunda antibiyotikler arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını belirlemek için Pearson Ki-kare testi kullanıldı. Bu testte p-değeri 0.05'in altında olduğu zaman sonuç anlamlı kabul edilir. *P.aeruginosa*'da tüm veri gruplarında p-değerleri 0.05'in üzerinde bulunduğu için anlamsız bir ilişki olduğu görüldü. *S.aureus* için ise Pearson Ki-kare testi sonuçlarına baktığımızda *P.aeruginosa*'dan farklı olarak eritromisin ve ciprofloksasin antibiyotiklerinde anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu hastalar, genellikle çoklu ilaç dirençli ya da tüm ilaçlara dirençli *P. aeruginosa* suşlarıyla enfektendirler. Bu problemler nedeniyle, bakteriyofaj tedavisi gibi alternatif tedavi yöntemlerine yönelme eğilimi artmıştır. Bu alışmadaki KF'li hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* suşlarından 2 adet faj izolasyonu gerçekleştirildi. İzole edilen fajların genom analizi yapıldı. Fajlara ait filogenetik ağaçlar ve genom haritaları çıkarıldı. |

Aralık 2024 , |70| sayfa.

**Anahtar kelimeler:** | Kistik Fibrozis, *S.aureus*, *P.aeruginosa* |

## ABSTRACT

[M.Sc. THESIS]

### [INVESTIGATION OF RESPIRATORY PATHOGENS IN PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS ]

[Aynura ALİSHOVA]

**İstanbul University-Cerrahpaşa**

**Institute of Graduate Studies**

**Department of Medical Microbiology**

**Microbiology Programme**

[Supervisor : Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ

Co-Supervisor: Assist. Prof. Dr. Kübra CAN KURT ]

Cystic fibrosis (CF) is a genetic disorder most commonly seen in Caucasians, inherited in an autosomal recessive manner. The leading cause of mortality in CF patients are frequently lung infections. This genetic disorder leads to the colonization of the mucosa with various microorganisms, initially in the upper respiratory tract and later in the lower respiratory tract. This study was conducted with 100 patient samples, 19 of which showed no bacterial growth or only flora bacteria. Among these CF patients, 54 were female (54%) and 46 were male (46%), with a male-to-female ratio of 1.17. This study focused on bacterial respiratory pathogens and their antibiotic susceptibility testing. Of the samples, 68 were sputum samples, and 32 were transtracheal aspiration samples. Bacterial cultures yielded 49.38% *Staphylococcus aureus*, 32.09% *Pseudomonas aeruginosa*, 16.04% *Moraxella*, 6.17% *Streptococcus pneumoniae*, 1.23% *Burkholderia cepacia*, 1.23% *Escherichia coli*, 7.40% *Haemophilus influenzae*, 4.93% *Corynebacterium*, and 1.23% *Klebsiella pneumoniae*. *S. aureus* and *P. aeruginosa* were the most frequently isolated pathogens. Among the *S. aureus* isolates, 13 were found to be MRSA. The highest resistance was observed against erythromycin (50%). For *P. aeruginosa* isolates, meropenem was found to be the most effective antibiotic. Of the *P. aeruginosa* isolates, 10 were found to have a mucoid phenotype. The association between antibiotics and two age groups of *S. aureus* and *P. aeruginosa* was evaluated using the Pearson Chi-square test. In this test, a p-value below 0.05 indicates

statistical significance. For *P. aeruginosa*, p-values were above 0.05 in all data groups, indicating no significant relationship. However, for *S. aureus*, significant results were obtained with erythromycin and ciprofloxacin. These patients are typically infected with multidrug-resistant or pan-resistant *P. aeruginosa* strains. Due to these issues, there has been an increasing trend toward alternative treatment methods, such as phage therapy. In this study, two *P. aeruginosa* isolates from CF patients were subjected to phage isolation. Genomic analysis of the isolated phages was performed, and phylogenetic trees and genomic maps of the phages were generated. |

December 2024, |70| pages.

**Keywords:** |Cystic fibrosis, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus |



## 1. GİRİŞ

Kistik fibroz (KF), genetik bir hastalık olup, dünya çapında yaklaşık 75.000 insanı etkilemektedir. KF, birçok sistemleri etkileyen bir hastalık olmasına rağmen, en önemli morbidite ve mortalitesi kronik akciğer hastalığıdır. KFTR modülatörleri gibi tedavilerde yaşanan gelişmeler, birçok hastada yaşam süresi ve yaşam kalitesi keskin ölçüde artırmış olsada, kronik akciğer sorunları hastalığın yönetiminde temel bir zorluk olarak kalmaya devam etmektedir. KF, kistik fibrozis transmembran iletkenlik düzenleyici (KFTR) geninde olan mutasyonlar tarafından kaynaklanır. KFTR geni, klorür ve bikarbonat gibi elektrolitlerin taşınmasını düzenlemekte olan, protein kinaz A tarafından aktive edilen ATP kontrollü bir anyon kanalını kodlamaktadır (1).

Solunum yollarına bağlı oluşan enfeksiyonlar genellikle; *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia* complex ve *Stenotrophomonas maltophilia*'dir (2). Bakterilerden başka virus ve mantar üyeleri de KF hastalarında ciddi kolonizasyon oluşturabilmektedir. KF'da olan mikroorganizmaların, tek veya birlikte kolonizasyona oluşturdukları ve polimikrobiyal enfeksiyon yapabildikleri bilinmektedir. Hastanın yaşam sürecinde sıklıkla uygulanan antibiyotik tedavisi sonucunda yapısı değişmiş olan bir akciğer ortamı (hipoksi, anoksi) ile karşılaşmaktayız. Bu durum, özellikle akciğer florasındaki azalmaya ve tedaviye direnç kazanmış ve ya adapte olmuş patojenlerin kolonizasyonuna sebep olmaktadır. Ayrıca polimikrobiyal enfeksiyonları oluşturan patojenler de kendi aralarında antagonistik veya sinerjistik ilişkiler sergilerler (3).

Bu hastaların solunum yollarında polimikrobiyal enfeksiyonunun oluşmasında en sık saptanan patojenler *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'dur. *S. aureus*, KF hasta pediatrik gruplarında en erken saptananmakta olan patojenlerden biridir. KF hastalarında en sık görülen bakteriyel enfeksiyonların kaynağı *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'dır. KF'li hastalar ömür boyu antimikrobiyal tedaviye ihtiyaç duyduğundan, antibiyotiklere direnç gelişimi oldukça yaygındır.

*P. aeruginosa* hastalığın ilk döneminde sıklıkla kolonizasyon oluşturmazken, hastalığın geç evrelerinde ise baskın hale gelmektedir.

2024 itibarıyla kistik fibrozis (KF) ile ilgili bazı güncel veriler ve gelişmeler şu şekildedir:

KF hastalarının yaşam süresi, 2024 itibarıyla 30'lu yaşların ortası civarındadır. Son yıllarda yapılan tedavi yöntemleri, yaşam süresinde önemli artışlara yol açmıştır.

KF'de akciğer hastalığının tedavi olunmasında beş temel yöntem yer almaktadır; mukolitik ajanlar, antibiyotikler, antiinflamatuvar ilaçlar, bronkodilatörler ve havayolunun temizlenmesinde rolü olan otojenik drenaj ve oksijen terapisi (3).

Tedavide olan yeni yöntemler ise gen terapisi, DNA/RNA düzenleme ve kombinasyon tedavileridir. Gen tedavisi, KF'nin temel sebeplerini hedef almaktadır ve bir takım klinik deneylerde test edilmektedir. Bu yaklaşımlar, KF'daki kök nedenleri düzeltmeyi amaçlamaktadır. Kombinasyon Tedavileri: Farklı tedavi yaklaşımları ve KFTR modülatörlerinin kombinasyonları, KF'nin tedavisinde daha etkili stratejiler sunma potansiyeline sahiptir (4,5).

## 2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

### 2.1. Kistik Fibrozis

Kistik fibroz (KF) beyaz ırkta en çok görülen, otozomal resesif bir genetik hastalıktır. 2000-3500 doğumda bir görülmektedir (6). İnsan vücudunda yer alan epitel hücrelerindeki transmembran regülatör (KFTR) genindeki mutasyonlar bu hastalığın nedenidir. Bu gen 7. kromozom üzerinde bulunmaktadır ve KFTR proteinini kodlamaktadır. Bu zamana kadar 2061 farklı mutasyon tespit edilmiştir. Kistik Fibrozis hastalığına bu mutasyonlardan 1500'den fazlasının neden olduğu düşünülüyor (3). Hastalığın önde gelen klinik özellikleri incelendiği zaman; ekzokrin ve endokrin pankreas yetmezliği, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), terde yüksek sodyum (Na) ve klor (Cl) kaybına bağlı gelişen psödo-Bartter sendromu ile erkeklerde görülen infertilite olarak özetlenebilir (6). Kistik fibroziste (KF) morbidite ve mortaliteden en çok sorumlu olan solunum yolu enfeksiyonları kabul ediliyor. KF'te enfeksiyona en sık sebep olan ve önemli olan mikroorganizmalar *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* *Haemophilus influenzae*, ve *Burkholderia cepacia* kompleks olup, ikinci derecede öneme sahip olanlar ise solunum influenza virus, sinsityal virus, ve *Aspergillus fumigatus* olarak sıralanabilir. KF'li hastaların balgamı yoğun vizköz yapıda olması polimikrobiyal üremelere ve bazı bakterilerin yavaş üreme hızı göstermesine neden olmaktadır. Bu zaman kültürlerin değerlendirilme aşaması oldukça güçtür ve yüksek deneyim gerektirmektedir (7). Kistik fibroz hastalarında klor transportunda olan defekt, pankreasta, solunum yollarında, gastrointestinal sistemde, diğer ekzokrin dokularda ve ter bezlerinden salgılanan sıvıda değişikliklere yol açmaktadır (6).

KF genetik hastalık olduğundan dolayı tedavi daha çok proflaktik ve semptomlarla ilgilidir. Genel anlamda akciğerde olan yoğun sekresyonu temizlemek, enfeksiyonu ve pankreatik yetmezliği tedavi etmek için gerekli besin ve vitamin desteği hastaya sağlanmalıdır. Bu tedavilerle birlikte son senelerde klor (Cl) kanalındaki hasarı düzelten tedavilerin geliştirildiği bildirilmektedir (6). Bu hastalığa erken tanı koymak ve uygun tedavi süreci uygulamak hastaların yaşam kalitesini ve sağkalım oranını arttırmaktadır (8).

Kistik fibrozlu hastalarda önemli mortalite nedenlerinden biri olan akciğer enfeksiyonları, genellikle bakterilerin kolonize olması ile başlamaktadır. *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* bu hastalarda en çok görülen solunum yolunun patojenleridir.

*H. influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *S. pneumoniae* gibi patojenler KF hastaların erken dönemlerinde baskın kolonizasyon yaparken; daha geç dönemde, *B. cepacia* kompleks, *P.aeruginosa* belirginleşerek kronik enfeksiyonlara sebep olmaktadır.

Solunum yolunun viral patojenleri, sağlıklı insanlarda ve KF hastalarında beraber sıklıkta enfeksiyona sebep olmaktadır. Viral enfeksiyon, KF hastalarının hastanede yatmasını gerektiren pulmoner alevlenmelerle sonuçlanabilmekte ve bu enfeksiyonu tetkik ederken hastaların örneklerinden yeni bakteri türleri izole edilmektedir.

### 2.1.1. Tarihçe

Kistik fibroz ile ilgili ilk kaynaklar Avrupa'da 18. yüzyıl edebi yazılarında rastlanılmaktadır. Bu kayıtlardaki bilgilerde çocuklar alından öpüldüğünde tuz tadı alınması ve bunun onların büyülenmiş olmalarından kaynaklı meydana geldiği ve yakın zamanda öleceklerine işare ettiği ifade edilmektedir. Bu ifadeler tanıda yer alan tuz kaybı ile ilgili erken dönemlerde bağlantı olduğunu göstermektedir (9). Amerikalı Tıp Doktoru Dorothy Hansine Andersen tarafından 1938 yılında „pankreasın kistik fibrozisi“ olarak bilinen kistik fibrozis (KF), genetik hastalık olup beyaz ırkta sık görülmektedir. Kistik fibroz hastalarının önemli bir kısmının ikinci yaşlarına gelmeden hayatlarını kaybetmeleri görülmüş ve bunun nedenin akciğerlerde ve bronşta oluşan enfeksiyonlar olduğu düşünülmüştür. Sonraki zamanlarda hayatını kaybetmiş çocuklarda yapılmış otopsilerde, çocukların ölümlerinin sebebinin akciğer parenkiminde olan enfeksiyonlar olmadığı, sebebin solunum yollarında olan yapışkan, yoğun, yeşilimsi renk bir maddenin solunum yolunu tıkaması sonucu çocukların ölümüne sebep olduğu görülmüştür (6,10).

Stafilokoklar ilk kez Koch ve Pasteur tarafından üretilmiş ve görülmüştür. Daha sonra 1881 yılında Ogston isimli bilim adamı stafilokokları *Staphylococcus cinsi* olarak isimlendirmiştir. Sonrasında *S. aureus*'un 1884'te Rosenbach tarafından enfeksiyonları ve tür adı tanımlanmıştır. *Staphylococcus* cinslerine ait olan penisiline karşı dirençli suşlar 1950 yılında, 1962'de metisiline dirençli olan *S. aureus* (MRSA) suşları tanımlanmıştır (11).

KF'li hastalarda Andersen beslenme bozukluğuna bağlı olarak ortaya çıkan pankreas yetmezliği ve solunum yolu hastalıklarını tespit etmiştir. Bu durum hastaları karşılaştığı temel sorunlardandır. Bunlar hastaların aşırı miktarda viskoz salgı üretmesi ve bu salgılarda *P.aeruginosa* gibi bazı bakterilerin kolonize olmasına ve tekrarlayan enfeksiyonlara bağlı olarak kronik akciğer hastalığı ve büyüme-gelişme geriliğine sebep olmaktadır.

1945 yılında bu hastalığı Farber'in "mukovisidosis" olarak isimlendirse de 1946 senesinde Hodges ve Andersen KF'nin mutasyon sonucu oluşmuş genetik bir hastalık olduğu fikrini ortaya atmışlardır. 1946'da diSant'Agnese ve arkadaşları. KF'li hastalarda olan tuz kaybını görmüşler; 1959'da Gibson ve Cook 1967'de ise Schwachman ve Mahmoodian bu hastalığın tanısı ve tedavisi ile ilgili birtakım çalışmalar yürütmüşlerdir. KF tanısında terde pilokarpin iyontoferez yöntemi ile elektrolit ölçümünü yapmışlardır (12). Quinton ter bezindeki klorür iyonlarının etkilenmiş transportunu açıklamış (13); Knowles ve arkadaşları solunum yolundaki epitellerin 1980'li yıllarda iyon transport anormalliklerini tanımlamışlardır (6). 1985 senesinde Tsui ve arkadaşları. (15) 7. Kromozomun uzun kolunda hastalıktan sorumlu olan genin olduğunu göstermiştir. 1989 senesinde KF'de mutasyona uğramış geni tespit ederek bu geni "Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator" (KFTR) olarak isimlendirmişlerdir (6).

2007 yılında KF hastalarındaki MRSA kolonizasyonunu araştıran ve *S. aureus* prevalansını geniş kapsamlı bir çalışma yürütmüşler ve 627 hastanın 275'inde (%44) *S. aureus* görülmüştür. %5 oranda MRSA kolonizasyonu; Küçük Koloni Varyantları (KKV) kolonizasyon oranı ise %4 olarak saptanmıştır (14).

Türkiye'de 2008'de bir prevelans çalışması yapılmış ve 248 KF hastasından 512 klinik örnek toplanmış ve incelenmiş 248 hastanın 20'sinden (% 8,1); 512 örnekten ise 32'sinden (% 6,4) KKV izole edilmiştir (14).

### 2.1.2. Patogenez

Bildiğimiz gibi KF genetik bozukluk sebebi ile oluşmuş olan otozomal resesif bir hastalıktır. Bu genetik bozukluk KFTR (Kistik Fibrozis Transmembran Regülatör) olarak isimlendirilen proteinin epitelyal dokudaki anormal fonksiyonu, yani defekti oluşur (10). Vücudun tüm hisselerindeki epitelyal olan hücreler KF'den etkilenebilir. KFTR geni etkilenmiş tüm epitelyal olan hücrelerde görülür. KFTR proteininin yer aldığı hücre tiplerine; havayolu epiteli, ter bezleri, pankreas, karaciğer ve üreme organları örnek verilebilir. KFTR proteininin

morfolojisine bakıldığında burada iki nükleotit bağlanma bölgesi, iki transmembran bölgesi ve bir düzenleyici “R”bölgesi olmakla hepsinin beş kısımdan oluştuğu görülmektedir.

Epitel hücrelerde doğal olarak yerleşen KFTR geni, sodyum ionlarının kontrolü ve klor iyonlarının bu protein aracılığıyla taşınmasından sorumludur. Bu proteinler ATP bağlayıcı proteinlerin bir üyesi olarak biliniyor (16,17).

Epitel hücrelerinin en üst kısım membranında görünen KFTR proteini, Cl ve Na transferinin düzenlenmesinde önem sağlar. Bu proteininin fonksiyon bozukluğu sonucu, yerleştiği dokuya göre değişiyor. Proteinin ter bezindeki fonksiyon bozukluğu incelendiğinde, kistik fibrozis hastalığında tanı koymak için kullanılmakta olan ter testinin temelini oluşmasında bir çeşit patofizyolojik mekanizmanın olduğu tespit edilmektedir. Sağlıklı insanlarda oluşan ter, ter bezinin kanalına ilerliyor ve Cl, KFTR proteini tarafından tekrar absorbe edilmektedir. Ancak KF’li hastalarında ter bezi kanallarının sodyum ve klorun geri absorbe mekanizmasının bozulması sonucu oluşan ter Na ve Cl bakımından zengindir (10,18).

Normalde akciğerde KFTR proteinine bağlı olmadan geri absorbe yolları var olmaktadır. Ancak sodyumun geçirgenliği klorun geçirgenliğinden çok olduğu için sodyumun emilimi daha çok olmaktadır ve su ile sodyumun mukozalara doğru çekilmesi ile solunum yolu salgılarında su eksikliği görülür. Dehidratasyonla ilgili olarak sekresyon katılaştır ve mukus tıkaçlara sebep olur. Neticede, tıkaçların oluşumu ve mukosilyer mekanizmadaki yaranan fonksiyonel bozukluk sonucu alt solunum yollarında tekrar eden bakteriyel kökenli enfeksiyonlar oluşur. Kistik fibrozis hastalığında akciğer tutulumu hayat standartları ve yaşam süresini belirleyen en önemli faktörlerden biridir. Akciğerlerde yaranan yapışkan salgılar submukozal olan bezlerin ve solunum yollarının tıkalı olmasına ve sonuçta solunum yollarının nötrofillerle zengin, iltihaplı ve viskoz yani koyu ve yoğun yapılı salgılarla tıkanmasına sebep olmaktadır. Solunum yollarının bu tip tıkanıklık yapması kistik fibrozisin en yaygın patolojik belirtisidir. Solunum yollarında oluşan enflamasyon sonucunda bronşiektazi, kronik bronşit ve peribronşiyal enflamasyon oluşmaktadır (9,19). Solunum yollarında oluşan bu katı kıvamdaki yapışkan mukuslu salgılardaki başlıca patojenler; *Burkholderia cepacia*, *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* ve *S. aureus* gibi patojenlerdir. Bu patojenler kolay bir şekilde uzaklaştırılmazlar. Kronik olan bakteriyel enfeksiyon ile kronik enflamasyon, akciğer işlevinin azalmasındaki en büyük sebeptir (9).

Kistik fibrozis hastalarının çoğunda sindirim sistemi problemleri de görülmektedir. Pankreas yetmezliği sonucu gelişen bağırsak sekresyonlarındaki bozulma nedenli gastrointestinal sistem (GİS) problemleri oluşur. Bu problemler sırasında; kabızlık, rektal prolapsus, megakolon, yeni doğan bebeklerde mekonyum ileusu ve nadiren de pankreatit görülmektedir (20).

## 2.2. Kistik Fibrozis Hastalarında Sık Rastlanan Solunum Yolu Patojenler

### 2.2.1. Stafilokoklar

*S. aureus*, kok şekilli, gram ve koagülaz pozitif, hareketsiz, aerop ortamda çoğalma yeteneğine sahip, bununla birlikte fakültatif anaerob üreme özelliğine ve biyofilm yaratma yeteneğine de sahip bir bakteridir. Cildin doğal bakteri dengesi özellikle de burun mukozasında görünmektedir (11).

*S. aureus* metisiline direnç oluşturmaya göre iki grupta inceleniyor: Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ve metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA). 1959 senesinde metisilin isimli antibiyotikğin tanımlanması yaklaşık 2 yıl içerisinde mecA genleri ile ilişkili olarak metisilin direnci saptanmış ve MRSA suşları belirlenmiştir. *S. aureus* KKV mikrobiyolojik besiyerinde düşük hızla ürerler ve tipik *S. aureus*'un morfolojisini yaratmazlar. Standart *S. aureus* kolonilerinden tahmini 10 kat daha ufak koloniler oluştururlar. Normal kolonilerden küçük koloniler oluşturmalarının sebebi genellikle onlara büyüme faktörü rolü oynayan hemin veya timidin, menadiona, bağımlı olmasından kaynaklanmaktadır (21).

KKV'ların solunum, fermentasyon yetenekleri zayıf ve düşük ATP düzeyine maliktirler.

#### 2.2.1.1. S.aureus'un KF'deki yeri

*S. aureus* hem yetişkin hem de çocuk KF hastalarında pnömoninin en sık rastlanan etkenidir. *S. aureus* KF enfeksiyonlarındaki önemi ve yeri 20. yy. başlarında yapılmış çalışmalarda ortaya konulmuştur. 1905'te yapılmış bir çalışmada, KF hastalarından 15 örnek alınmış ve alınmış örneklerin dokuzunda kültürde *S. aureus* pozitif olmuş ve bu hastalarda dikkati çeken ilk bakteri olmuştur; günümüzde de bu problem konumunu korumaktadır. *S. aureus* KF hastalarının yaşam döngülerinin ilk dönemlerinde solunum yollarında kolonize olan patojenlerden biri de *S.aureus*'dur (3).

Yapılan çalışmalarda, KF hastalarının ilk dönemlerde *S. aureus* suşları yaygın şekilde izole edilebilen etkenler arasında iken, MRSA suşları akciğer işlevlerinde hızlı bozulma, hastanede yatış ve artmış olan mortalite ile bağlantılı olarak kronik enfeksiyonların nedeni olarak bilinmektedir (22).

### 2.2.1.2. *S. aureus* KF’da virülansı

*Staphylococcus aureus* konakta hasar oluşturmak ve konağın savunmasından kaçmak için birden fazla virülans faktörü yaratmaktadır (3).

*S. aureus* suşlarının virülans faktörlerinden bir tanesi MRSA suşlarından ekspresyonu daha çok görünen, Panton Valentin lökositidin (PVL) lökositolitik bir toksindir. Bu toksin çok ciddi akciğer enfeksiyonlarının da sebebidir (23). Toksin yayılımı, KF hastasının akciğerinde olduğu gibi anaerob ortamdada birçok faktör tarafından düzenlenmektedir (14).

Normal *S. aureus* suşlarına göre KKV’lar antibiyotiklere daha yüksek miktarda direnç göstermektedirler (24). Antibiyotik direnç profili dışında, KKV’nın en çok hücre içerisinde yerleşim gösteriyor olması, konakta savunma mekanizmasına daha dirençli olmasına sebep olmaktadır (25). Bundan başka *S. aureus* suşları (KKV ve MRSA dahil olmakla) biyofilm sentezleme becerisine sahiptirler ve bu da güçlü bir virülans özelliği olarak bilinmektedir (26).

#### - Enzimler

Virülans faktörü olarak *S. aureus* çok sayıda enzim üretebilmektedir;

#### **Katalaz:**

Bütün stafilokoklar katalaz enzimini üretmektedir. Bu toksin hidrojen peroksidi suya ve oksijene parçalar (27).

#### **Koagülaz:**

Serbest ve bağlı olarak iki şekilde görülür ve ekstraselüler olan bir proenzimdir. Coagulase-Reacting Factor (CRF)’e bağlanarak aktif forma geçerek plazmada pıhtılaşmaya sebep olmaktadır. Stafilokokların patojen özellikte olup olmaması ayırımı yapılması için koagülaz yapılmaktadır. Patojen olan stafilokoklar çok zaman bağlı olan (clumping factor: KF) kümeleştirici faktör ve serbest (Stafilokinaz) koagülazlara sahip olurlar. Serbest şekilde olan koagülaz proteinin yapısında olup proteolitik enzimler ile birlikte kolay şekilde aktive olur. Bu

enzim fibrinojenin fibrine çevrilmesinde rol alarak plazmada pıhtılaşmaya neden olup, normal plazmada görülen ve koagülazı etkileyen CRF'yi aktiveleştiriyor.

**Fibrinolizin:**

Fibrin olan yapıları parçalayarak dokularda yayılmaya yardım eder (28).

**Lipaz:**

Lipid yapılarda parçalayıcı özelliğe sahiptir. Ayrıca subkutan ve kutanöz tabakalarda yayılmayıda kolaylaştırmaktadır (28).

**Hiyalüronidaz:**

Bu enzimle hücreler arası zeminde görünen hyalüronik asidin parçalanmasını sağlamaktadır (27).

**Deoksiribonükleaz:**

DNA'yı parçalamaktadır.

**Beta Laktamaz:**

Gram pozitif olan bakterilerden stafilokoklar beta laktamaz üretimi yapan patojenler arasında ilk sırada gelmektedir. Beta laktamazlar plazmidlerle kodlanmaktadır. Ayrıca antibiyotik direncinde sorumlu bir yapıdır ve yalnız beta laktam antibiyotik var olan ortamda veya bileşimsel olarak devamlı şekilde üretilmektedirler (27,28).

**- Toksinler**

*S. aureus*'un yarattığı toksinler lökosidin (Panton-Valentine: P-V Lökosidini), hemolizinler, eksfoliyatif toksin, enterotoksin, toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1) olarak sıralanmaktadır.

**Panton-Valentine (P-V Lökosidini):**

Bir tür  $\gamma$ -hemolizindir ve bu hemolizin türler arasındada taşınabilmektedir (27). Elektroforetik olarak birbirinden farklı iki protein komponentinden oluşmaktadır F (Fast: hızlı) ve S (Slow: yavaş) bu iki komponent de antijenik özelliktedir. Formaldehitle toksoite çevrilebilir. Lökositleri bozduğu için fagozitoz prosesini engeller ve virulansda rolü olan bir toksindir. *S. aureus* bakterilerinin yaklaşık %2'inde görülmektedir. En çok çocuklarda ve yetişkinlerde deri

enfeksiyonları, pnömonide ve toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonlarında oluşmaktadır (29). Bundan başka bu toksin çok ciddi akciğer enfeksiyonlarına sebep olmaktadır

### **Eksfoliyatif Toksin:**

Stafilokok kökenli enfeksiyonların cilt yüzeyindeki belirtilerinden sorumlu tutulan toksin eksfoliyatifdir ve ilk defa 1971 senesinde tanımlanmıştır. Eksfoliyatif immünolojik ve biyokimyasal olarak farklı yapılara sahip olan iki proteinden oluşmaktadır; eksfoliyatif toksin B (ET-B) ve eksfoliyatif toksin A (ET-A)'dir. ET-A (ısıya dayanıklı olan) gen tarafından kodlanırken ET-B (ısıya duyarlı olan) plazmidlerin yardımı ile kodlanır. Eksfoliyatif toksin cilde özgü düşük sıcaklıkta enzimatik aktivite gösteren serin proteaz enzimi ile birlikte süperantijen olarak bilinmektedir (27,30,31).

### **Toksik şok Sendromu Toksini-1 (TSST-1):**

Bu toksin hastane kaynaklı *S. aureus*'lerden salgılandığı bilinmektedir. Ayrıca *S. aureus*'un vajinada yerleşmesine sebep, menstruasyon dönemindeki bazı kadınların kullandığı tamponlardan kaynaklandığı belirtilmektedir (30).

### **Enterotoksin:**

İnsandan izole olunan *S. aureus* suşlarının birçoğu enterotoksin salgılıyor ve serolojik bakımdan birbirinden farklı olan yaklaşık 15'ten çok enterotoksin olduğu bildirilmektedir. Isıya direnç göstermektedir.

Enterotoksinin A, E, B, D C1, C2 ve F olarak immünolojik açıdan 7 tip bulunmakta ve her biri süperantijendir. Birbirlerinden kendilerine özgü antikorları ile sebep oldukları immunolojik olan reaksiyonlara göre ayrılırlar. D ve A gıda zehirlenmesinde rol oynarken, hastane kökenli enfeksiyonlarda ise B görülen bir toksindir. Stafilokokların enterotoksin salgılayabildikleri gıdalar arasında dondurma, patates, makarna sosu, süt tozu, salam ve tuzlanmış et mahsülleri örnek verilebilir (27,28,30).

### **2.2.1.3. Patogenez**

*S. aureus* bilindik mekanizmalarından başka antimikrobiyal olan ajanlardan saklanmak için başka tip stratejiler geliştirmektedir. Biyofilm üretilmesi veya hücre içine yerleşerek difüzyon bariyerler oluşturması bu kaçış mekanizmalarındandır. Ancak çoğuzaman *S. aureus*, hücre

içinde yerleşim gösteremeyen patojen olarak görülmektedir (32,33). İnsanın bağışıklık sistemi mekanizması, patojenlerin sayısı ve virulans faktörü, deri ve mukozanın bütünlüğünün dağılması enfeksiyon oluşumunda etki yaratan faktörler sırasındadır. Damar içindeki plastik kateterler ve protezler uygulanmış kişilerde bakteriyemi oluşması görülebilmektedir. En önemli enfeksiyon kaynaklarından bir diğeri burnunda stafilokok bakterisi taşıyanların olmalarıdır. Bu bakteriler temas ve hava yolu ile yayılabilmektedir (30).

#### **2.2.1.4. Yaptığı Hastalıklar**

*S. aureus* birçok enfeksiyona sebep olmaktadır; abse, lokal olan enfeksiyonlar, piyojenik eksudayı örnek olarak gösterebiliriz. Bununla birlikte ekzotoksinlerle ilgili olarak qıda zehirlenmeleri, toksik şok sendromuna benzer vakalar da karşılaşmaktayız.

#### **2.2.2. Pseudomonas aeruginosa**

*Pseudomonas aeruginosa*, gram negatif, katalaz pozitif, hareketli, çomak şekilli, nonfermentatif olan bir bakteri türüdür. Oksidasyon yolu ile glikozu parçalar. Kültürde 25°C ile 37°C derecede iyi üreyebilme özelliğine sahipken, 42°C'de de üreyebilme özelliğine sahip olması onu başka *Pseudomonas* türlerinden ayırt ediyor. Bu bakterilerin birçok türü, birden fazla renk veren pigment molekülleri oluşturmaktadır. Bu pigmentlerden en çok görülen, piyoverdin (yeşil-sarı), piyosiyenin (yeşil-mavi), ve piyorubindir (kırmızı-kahverngi) (34).

İnsanların normal florasında bulunan bu bakteri fırsatçı bir patojen olarak karşımıza çıkmaktadır. *P.aeruginosa* çevre koşullarına dayanıklı olması sebebi ile suda, toprakta ve doğada yaygın bulunmaktadır. Son senelerde, fazla antibiyotik direnci oluşturan suşların ortaya çıkması ile dikkat çeken önemi yüksek olan hastane kaynaklı enfeksiyon etkenli bakterilerden birisidir. Önce bağışıklığı baskılanmış kişilerde ve kanser olan hastalar olmak üzere, KF hastalarında dahil hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara neden olmaktadır.

##### **2.2.2.1. P. aeruginosa'nın KF'deki yeri**

KF hastalarının solunum sisteminin *P. aeruginosa* ile enfekte olması, bu hastalarda mortalitede ve morbiditesinde önem taşımaktadır. Bu hastalarda birçok solunum yolu problemlerinin

yanısıra, *P. aeruginosa*'nın sebep olduğu kronikleşmiş akciğer enfeksiyonunun en önemli klinik bulgularından birisidir (35).

*P. aeruginosa*, 2 tip farklı fenotip şeklinde KF'da mukoid ve mukoid olmayan olarak izole edilmektedir. İlk kolonizasyonunda en çok mukoid formda olmayan suşlar belirirken, kalıcı kolonizasyonda ise mukoid olan suşlar görülmektedir. Mukoid fenotip, yüksek miktarda aljinat salgısının yükselmesine bağlı olarak oluşturduğu biyofilm ve antibiyotikler ile eradikasyonun zor olduğu kronik enfeksiyonlardan sorumludur (36). *P. aeruginosa*'nın salgıladığı birden fazla virülans faktörleri, "quorum sensing" (QS) olarak nitelendirilen, bakterilerin birbirleri ile iletişimi ve bakteri ile hücre artışının izlenmesini mümkün kılan bir mekanizma tarafından idare edilmektedir (37).

KF'da solunum sistemindeki en önemli özelliklerden biri bir veya birden fazla patojenin kolonize olmalarına zemin yaratmaktır. Bu durumda, hastaların zamanla birçok farklı sınıflardan olan antibiyotik kullanmalarına sebep oluşturmaktadır. Sonuçta, özellikle kronik enfeksiyondan sorumlu tutulan bakterilerde kazanılmış olan antibiyotik direnci sıklıkla görülmektedir. En çok gram negatif olan bakterilerde bu durumun sıklıkla karşılanması ile birlikte çok fazla ilaca dirençli suşlar da görülmektedir (3).

#### **2.2.2.2. *P. aeruginosa*'nın KF'deki Virülansı**

Bazı *P. aeruginosa* suşları ortamda mukoid formda görülmektedir. Bu yapıda olmasının sebebi, bakterinin fazla miktarda polisakkarid yapıda olan aljinat salgılamasından kaynaklanmaktadır. Aljinat, mucA genininde olan mutasyon sonucu yanısıra, algT'inde katkısıyla *P. aeruginosa* tarafından üretilmektedir. Aljinat, makrofajlardan salınan serbest radikallerin engel olunması, bariyer yaratarak fagositozun engellenmesi, nötrofil kemotaksisi ile bakterini olduğu ortamdan uzaklaştırılmamasında birden fazla rol üstlenmektedir. Bundan başka, solunum yollarında *P.aeruginosa*'nın biyofilm yaratmasına da katkıda bulunmaktadır (38).

*P. aeruginosa*'nın KF solunum yollarında kolonizasyonu, biyofilm oluşturarak çoğalmasına sebep olmaktadır. Biyofilm, hücre ayrılmaları, farklılaşmayı ve ayrışmayı oluşturan çok sistemli bir yapıya sahiptir. Bu yapının oluşması için, flajeller, tip IV pili ve başka gen modellerine gerek duyulmaktadır. *P. aeruginosa*'da iki tip farklı biyofilm oluşması gözlenmektedir. Birincisi KF hastalarının ilk kolonizasyonunda veya KF dışı kolonizasyonda, ikincisi ise KF hastalarında kronik olan akciğer enfeksiyonunda rol alır. İlk biyofilm

oluşmasında *P. aeruginosa*, flajelleri veya pili ile epitel yüzeyine tutunarak, birkaç hücre bölünmeleri ve biyosentez sonrasında mikrokolonizasyonlar oluşturmaktadır. Sonra bu mikrokoloninin çoğalması ve olgunlaşması ile makrokolonilerin yani biyofilm tabakasının oluşması görülmektedir. Oluşan biyofilm, KF hastalarının solunum yolunda kalın mukusun içinde görülmesi ile *P. aeruginosa*'yı çok dirençli patojene çevirerek kalıcı bir kolonizasyona ve kronik enfeksiyona neden olmaktadır (39).

QS sisteminde 300'den çok genin düzen oluşturmada *P. Aeruginosa*'nın büyük rolü olduğu bilinmektedir. Bakteriyel etkenlerde özellikle de mikst enfeksiyonlarda QS büyük öneme sahiptir. Biyofilm oluşumu, bakteri vürülans faktörlerinin düzene girmesi, ekzotoksin A, ekzoproteazlar, rhamnolipidler, hidrojen siyanür ve fanezinler gibi bakterilerin vürülans faktörlerinin düzene sokulması bu mekanizma ile oluşmaktadır. Vücut savunma sisteminden kaçış, mikroplara karşı direnç ve konakta olan yayılım bu sistemin koordinatörlüğünde gelişmektedir (40).

#### **-Piyosiyenin**

Piyosiyenin, *P. aeruginosa* tarafından üretilen ikincili metabolik ürünlerden birisidir. Bu molekülün biyolojik membranda tutunmasını kolaylaştıran sebep hem negatif hem de pozitif yüke sahip olmasıdır.

Piyosiyenin KF hastalarının akciğerinde, konak hücrede solunum ve siliyer fonksiyonlarını engellediği, *P. aeruginosa*'nın yayılımını yükselttiği, prostasiklin üretimi ve kalsiyum hemostazını inhibe eden özellikleri olduğu bilinmektedir. Bundan başka vücudun immun yanıtında da bazı değişiklikler yapmaktadır. *P. aeruginosa*'nın KF solunum yolundaki mukus tabakasında anaerob koşulda üreyebilmesi ve bu ortamda üreyebilme özelliği gösteren *Bacillus* spp. ve *Staphylococcus* gibi bakterilerin ortamda var olması, *P. aeruginosa* için bir ortam yaratmakta, bu rekabet oluşan ortamda piyosiyenin salgılanması ile diğer bakterilerinde çoğalmaları engellemektedir (41).

#### **2.2.2.3. P. aeruginosa'nın Sebep Olduğu Hastalıklar**

Fırsatçı patojen özelliğinde olan *P. aeruginosa*, son senelerde hastane ortamlarında sıklıkla rastlanmaktadır ve insanlarda birçok farklı enfeksiyonlara neden olmaktadır (42,43).

Merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, endokardit, solunum sistemi enfeksiyonları, kulak enfeksiyonları, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, kemik ve eklem enfeksiyonları, göz enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, bakteriyemi, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları *P. aeruginosa*'nın sebep olduğu en önemli enfeksiyonlar olarak bilinmektedir (43).

### **Solunum Sistemi Enfeksiyonları:**

*P. aeruginosa* daha çok, akciğer solunum yollarında ve immun savunmasında hasar olduğu zaman, alt solunum yollarında kolonize olarak enfeksiyona neden olduğu görülmektedir ve immun sisteminde defekt olan insanlarda hayatı tehdit edici, akut, bakteriyemik veya non-bakteriyemik şekilde pnömoniye sebep olmaktadır. Bu kişilerde *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının oluşmasındaki en önemli etken fagositoz, opsonizasyon, ve bakterisit mekanizmaların etkin olmamasıdır (43,44). KF hastalarının akciğerlerinde görülen *P. aeruginosa*'nın non-mukoid yapıdan mukoid yapıya dönüşmesi solunum sisteminde hızlı bir düşüşe sebep olmaktadır. *P. aeruginosa*'nın ilerleyen akciğer enfeksiyonu oluşumunda önemli rolü vardır. Erken tanı ve tedavideki önemli gelişmeler ile geri dönüşümsüz akciğer defektinin önlenmesi ve geciktirmesi oldukça önemlidir (44).

### **2.2.3. Haemophilus influenzae**

Haemophilus cinsi, Pasteurellaceae ailesinden bir üyedir. Bu cinsteeki bakteriler hareketsiz, küçük, sporsuz, fakültatif anaerop veya aerop bazen pleomorfik formda, gram negatif kokobasiller şeklindedirler Haemophilus grubu insanda ve hayvanların muköz membranlarında görülmektedir. Bu türden olan bakterilerin üremesi ve gelişebilmesi açısından kan ve kanda olan faktörlere gerek duymaktadır (43,44,45).

Haemophilus cinsi ilk defa 1892 senesinde Pfeiffer tarafından saptanmıştır. İnfluenza pandemisi olduğu zamanlarda, influenzadan hayatını kaybeden hastaların akciğer doku parçalarından ve balgam kültürlerinden bu bakteriler izole edilmiştir. 1889 yılında ise menenjit etkeni gibi Slawyk tarafından tanımlanmıştır. 1931'de M. Pittman tarafından kapsüllü formları ve kapsülsüz formları tanımlanmıştır (46).

*H. influenzae* 0.5-3 µm boyunda, uç kısımları yuvarlak şekilli, kokobasil formlardır. Birbirine paralel olan kümeler yaratırlar, kısa zincirler oluştururlar ve bir kısmı lökositler tarafından fagositte olunmuş olarak görülmektedir. Sporsuz, hareketsiz, gram negatif olan kokobasillerdir.

Bazen kapsüllü şekildedirler bazense beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi steril klinik örneklerden izole edilmiş preparatlarda kapsüllü formlar kısa zincir veya kümeler şeklinde saptanmaktadır. Balgam izolatında pleomorfik, kapsülü olmayan ince ve uzun şekillerde görülebilir. Kapsül polisakkaritte olan antijenik yapıya göre altı farklı serotip (a-f) olarak tanımlanmaktadır. Serotip b'nin kapsülü ise invaziv olan enfeksiyonların %95'lik kısmından sorumlu tutulmaktadır. Bu kapsülün temelini poliribozil ribitol fosfat (PRP) oluşturmaktadır. Bundan başka içeriğinde nükleik asit, pentoz, fosfor ve diğer elemanlar mevcuttur. (43,44). *H. influenzae* aerop aynı zamanda fakültatif anaerop olan bir bakteri türüdür. Adi besiyerlerinde üremeleri görülmez ve aerop koşullarda üreyebilmesi için faktör X'e ve faktör V'ye gerek duymaktadır. Aynı zamanda aerop şartlarda üreyebilmek için pH 7.4-7.6 arası, optimum sıcaklık 37 °C olmalıdır. *H. influenzae* çukulata agar, kanlı agar, ve Levinthal'in kaynamış kanlı agarlarında üreme becerisine sahiptir. Rutinde en çok kullanılan agar ise çukulata agardır. *H. influenzae*'nin diğer haemophiluslardan farkı deltaaminolevulinik asitten (ALA) protoporfirin salgılayamamasıdır. *H. influenzae* sekiz biyotip (I-VIII) içermektedir. Bunu söyleye bilmemizdeki sebep üreaz üretimi, indol üretimi, ve ornitin dekarboksilaz aktivitesi bulunmasıdır. Genel olarak biyotip I'in bir menenjit etkeni olduğu saptanmaktadır (43,4).

### 2.2.3.1. Patojenitesi ve Patogenez

*H. influenzae*da olan hücre substansı, deney yapılan hayvanlarda toksik bir etkiye neden olmaktadır. Sıvı kültürde yaranan toksik substans tavşanda ölümcül etki yaratmaktadır. Bilinen bir ekzotoksini yoktur ama endotoksin tesiri görülmektedir. *H. influenzae*'nin patojenitesini oluşturan yapıtaşları dış membran proteinleri ve kapsülüdür. Diğer virülans faktör ise, salgıladığı IgA proteazıdır. IgA proteazı üreten beş bakteri türünden biri *H. Influenzae*'dir. IgA proteazlar, aynı zamanda nötral endopeptitlerdir. *H. influenzae* ise IgA tarafından korunan hedef bölgelere enfeksiyon bulaştırmaktadır (45).

*H. influenzae*'nin patogenezinde ilk etap üst solunum yollarında yer edinmesidir. Bir takım adezin molekülleri ile nazofarinkteki kendine özgü reseptörlere tutunarak burada artar ve kolonize olur. Bu kolonizasyonun sonucunda asemptomatik taşıyıcılık saptanmaktadır (90,91).

### 2.2.3.2. Epidemiyoloji

*H. influenzae* dünyanın her bölgesinde bulunmaktadır ve 5 yaşın altında olan çocuk grubu için risk faktörü taşımaktadır. *H. influenzae* enfeksiyonunda b serotipi en sık rastlanan suşdur. Artan

yaşla birlikte invaziv hastalıkların görülme sıklığında düşüş görülür ancak hastalığın riskini yükselten, orak hücreli anemi, kronik pulmoner hastalıklar, immünglobulin defekti, splenektomi, ve erişkinlerde alkol kullanılması gibi bir sıra faktörleri göz önünde bulundurmak gerekir (43,44).

#### **2.2.3.3. Dirençlilik**

*H. influenzae* çevre koşullarında oldukça dirençsizdir. Kuruluğa, dezenfektan maddelere ve sıcaklığa karşı duyarlıdır. 30 dakikalık sürede 55 °C ısıda ölürler. Penisiline ve ampisiline karşı direnç gösterirler ve beta-laktamaz salgılamaktadırlar. TMP/SXT'ye klindamisine, ve gentamisine karşı duyarlıdır fakat tetrasiklin ve kloramfenikole dirençlidir. Bu direnci ise plasmid ile oluştururlar (43).

#### **2.2.3.4. Yaptığı Hastalıklar**

*H. influenzae*'nin bilinen tek bir rezervuarı insanlardır ve birçok sistemde hastalık yapmaktadır. *H. influenzae* tip b (Hib) invaziv olan hastalıkların yaklaşık %95'inden mesuldür. Mikroorganizma boğazda nazofarinkse kolonize olduktan sonra bunu orta kulakta iltihap, nazofarenjiti sinüzit, ve pnömoni seyredebilmektedir. Hib invaziv hastalıklarının %54 ile %67'i oranını menenjitlerin yaptığı bilinmekte ve çoğunluğu 3 yaşın altı olan çocuklarda akut menenjit yapmaktadır. 6 yaş üstü olan çocuklarda ise epiglottisde mikroapseler oluşturur ve oluşan ödem, hava yolunda tıkanmaya neden olduğundan acil şekilde trakeostomi yapılması gerekebilir (43).

#### **2.2.4. Enterobacteriaceae**

Enterobacteriaceae ailesi üyeleri insanların ve hayvanların bağırsak floraslarında görünen gram negatif olan bakterilerdir. Bazı kısım patojen olmakla birlikte bir kısmı florada olup fırsatçı patojen olarak görünmektedir. Bu üyeden olan bakteri grupları pnömoni, gastroenterit, menenjit, idrar yolu enfeksiyonu, septisemi gibi organlara ve sisteme etki eden enfeksiyonlara neden olmaktadır. Ayrıca birçok Enterobacteriaceae türü nozokomiyal olan enfeksiyon bakteriler arasında yer almaktadır. İnsanlarda en çok görülen bakteriyel etkenler *E. coli*, *Proteus*

ve *K. pneumoniae* türleridir. KF hastalarında da enterobakterlerin kolonize olmalarına ve bunun sonucuna bağlı olarak solunum yolu enfeksiyonları görülmektedir (44).

### 2.2.5. *Burkholderia cepacia* Kompleksi

*Burkholderia cepacia* Kompleksi (Bcc), çevrede kaynaklarından veya kişiden kişiye bulaşma özelliğine sahip 20'den fazla türden oluşan bir grup oksijen gerek duyan gram-negatif basillerdir.

#### Çevresel Bulunma ve Virülans:

1. **Çevresel Kaynaklar:** Bu bakteriler çoğunlukla çevre koşullarında, özellikle de toprakta ve saksı bitkilerinde bulunur. Oksijenli ortamda büyüme özelliğine sahiptir.
2. **Virülans Faktörleri:** Pili epitel hücrelerine yapışması kolaylaştırmaktadır. Quorum Sensing Genleri ise biyofilmin oluşmasında kolaylık sağlar.

#### 2.2.5.1. Kistik Fibrozis (KF) ile İlişkisi

Kistik fibrozis (KF) hastaları için bu bakteriler özellikle önemlidir çünkü bu bakteri ile kolonize olan kişilerde genellikle iyi olmayan klinik sonuçlar gözlemlenmektedir. *Burkholderia cepacia* enfeksiyonları, akciğer fonksiyonunda hızla bir düşüşe ve hem akciğer nakli öncesi hem de sonrasında artmakta olan mortaliteye neden olabilir. Bu tür enfeksiyonlar, hastaların genel sağlığını ciddi şekilde etkileyebilmektedir.

**Yaygınlık:** Erken epidemiyolojik araştırmalarda, *Burkholderia cepacia*, kistik fibrozis (KF) hastalarında en yaygın olan Bcc organizması olarak tanımlanmıştır. Son zamanlarda, *Burkholderia multivorans* daha yaygın hale gelmiştir ve neredeyse *B. cepacia*'nın yerini tutmuştur. Bu değişikliğin sebebi, enfeksiyon kontrolü ve önlemlerin güçlendirilmesiyle *B. cepacia*'nın edinim oranlarının azalması, bununla birlikte *B. multivorans*'ın ise çevreden daha sık izole edilebilmesidir. *Burkholderia gladioli* ise KF hastalarından izole edilen üçüncü sırada yer alan en yaygın *Burkholderia* türüdür, ancak bu tür Bcc grubuna dahil değildir (46).

### 2.2.6. *Stenotrophomonas maltophilia*

Doğa, toprak, bitki, su, organik kalıntılar benzeri kaynaklarda, çevresel kaynaklarda çok sık rastlanan ve klinik izolatlarda *Acinetobacter* ve *P. aeruginosa* türlerinden sonra sıklıkla izole edilmiş olan, gram negatif ve nonfermentatif bir bakteridir. Bu bakteriler, hastanelerde yatan hastaların hastane enfeksiyonu geçirmelerine sebep olur. Birçok antimikrobiyal ajanlara ve dezenfektanlara karşı direnç oluşturmaktadır. Bunun nedeni ise sahip olduğu dış membran formatıdır. KF hastalarının solunum yollarında kolonizasyona ve enfeksiyonlara sebep olmaktadır.

### **2.2.7. *Acinetobacter***

Gram negatif nonfermentatif olan mikroorganizmalar içinden *P. aeruginosa*'dan sonra ikinci sırada yer alan bakterilerdir. Genellikle mukozada ve deride kolonize olurlar. Bunların mortalitesi ve morbiditesi yüksek olup hastane enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Antibiyotiklere karşı yüksek direnç gösterdiklerinden, yaptıkları enfeksiyonlar büyük sorun oluşturmaktadır. KF hastalarında solunum yollarında kolonizasyon yapmaktadır ve çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır (42).

## **2.3. Kistik Fibrozis Hastalığında Tanı Metotları.**

### **2.3.1. Yeni doğan taramaları**

Bazı devletlerde 1979 senesinden şimdiye kadar yeni doğmuş bebeklerden, yaşam süresinin ilk üç günü dahilinde topuktan alınan kan Guthrie kartlarına damlatılarak İmmünreaktif Tripsinojen (IRT) düzeyi izlenerek tarama yapılır. Ülkemizde ise KF hastalığında tarama programının yapılması 1 Ocak 2015 yılında gerçekleştirilmiştir. Sağlıklı doğan bebeklerde kistik fibrozisli bebeklere göre daha düşük IRT değerlerine sahiptir. Kanda IRT seviyesinin yüksekliği pankreasta üretilen IRT'nin, kanallarda tıkanıklık olması nedeni ile dolaşıma geçmesinden kaynaklı olduğu belirtilmektedir. IRT düzeyine yenidoğan dışında tanı testi şeklinde kullanılmamaktadır.

### 2.3.2. Ter Testi

Kistik fibrozisin tanısı genellikle hastaların terlerindeki klorün konsantrasyonu ölçümü sonucunda konulmaktadır. Bu testi bebeklerde doğumlarından 2 gün sonra uygulandığı zaman daha doğru veriler elde edilir. Bunun sebebi 2 gün içerisinde bebeklerdeki terlerin elektrolit değerleri geçici süre yükseklik gösterebilir (99,100). Ter testindeki temel prensip “Pilocarpin iyontoforez yöntemi” ile, öndeki kola 5 mV’luk elektrik akımı gönderilerek üretilen terin stimüle olunması ve bu terin, “Gibson Cooke” yöntemiyle pedde, ya da “Macroduct yöntemi” ile plastik olan disk şeklindeki kapiller tüplerde saklanması ve içinde olan potasyum, klor, sodyum, laktatin ve bikarbonat miktarlarının ölçülme işlemidir (6).

Altı aylık olmamış bebekler için terdeki ölçülen Cl miktarı  $\leq 29$  mmol/L ise negatif, 30- 59 mmol/L olduğunda şüpheli;  $\geq 60$  mmol/L ise pozitif olduğu kabul edilmektedir. Altı ayından büyük olan bebeklerde ise sonucun  $\geq 40$  mmol/L olarak görülmesi normal olmayan aralık kabul olduğundan, testin tekrar yapılması önerilmektedir. Eğer sonucu  $\geq 60$  mmol/L şeklinde görürsek, o zaman KF tanısı lehinde değerlendirilir. Ter testini en doğru şekilde değerlendirmeye alınması için; hastanın akut olan bir enfeksiyonunun olmaması, klinik açıdan stabil olması, iyi bir şekilde hidrate olması ve mineral kortikoid almamış olmasına da dikkat edilmesi gerekmektedir (9).

### 2.3.3. Mutasyon analizi

Kistik fibrozis tanısı konulduğu zaman özellikle ter testi baz olarak alınmaktadır ancak ter testinin şüphe yarattığı durumlarda “DNA analiz yöntemi” ile tanı koyulmaktadır (47). KFTR geninde yaklaşık 2000’in üstünde bir sekans değişikliği görülmüştür. KFTR genetik analizinde mutasyonun belirleme oranı  $> \%95$  olması gerekmektedir. Ancak dikkatli olunması gereken bir konu da yaşadığımız toplumda beyaz ırkta oluşan mutasyonların sıklığının az olması durumudur. Böylece bu orana ulaşabilme ihtimali azdır. Normal şartlar altında tanı konması için klinik açıdan bulguları uyumlu olan KF hastasının bilinen iki adet KF mutasyonunun varlığı yeterlidir. İki veya daha çok mutasyonu olan hastalarda bu mutasyonlar aynı kromozom üzerinde *cis* konumunda ya da farklı kromozomların üzerinde *trans* konumunda olabilir. Burada önemli olan konu, genetik analizler sonucunda eğer tespit olunmuş mutasyonlar aynı kromozom üzerinde ise genellikle hastalık yapmamaktadır. Tanısı konulamayan hastalara DNA analizi yapılırken buna dikkat edilmesi önerilmelidir (48,49). Genetik analizin sonucunun

değerlendirilme aşamasında dikkat edilmesi gereken diğer bir nokta ise KF’de klinik bulguların diğer çevresel ve genetik olan faktörlerle birlikte KFTR genotipinden de etkilenmesidir. Mutasyon gruplarını değerlendirecek olursak; grup I, II ve III mutasyonlarına sahip hasta gruplarının, grup IV ve V mutasyonlarına sahip hasta gruplarından daha ağır klinik tablo oluşturmaktadır (50,51).

## 2.4. Klinik Bulgular

Kistik fibrozis hastalarının bazı organlar sistemin tutulumu söz konusudur. Ancak KF tüm organları etkilemekte olan multisistem bir hastalık olsada, KF hastalarının herbirinde her organ aynı oranda etkilenmeyebilir. En çok etki gören organlar akciğerlerdir. Hastanın klinik bulguları yaşına, tutulan organlarına, tanısı konulduğu zamana ve komplikasyonun varlığına göre değişkenlik göstermektedir (9).

### Kistik Fibroziste akciğer tutulumu

Kistik Fibrozis’te solunum yolunun büyük oranda etkilenmesi söz konusudur. Hastaların yaklaşık %99’unda kronik pansinüzit görülmektedir. Bunun sebebi sinüs epitellerinde anormal Cl iyon transportu, mukozal gland hiperplazisi ile birlikte bakterilerin kolonize olmasıdır. Bu kronik enfeksiyonların sonucunda mukozalarda ödem ve şişkinlik yaranmaktadır. Mukoz membranların tıkama yapması sonucu hastalarda geniz akıntısı, baş ağrısı, yüz kaslarında ağrı ve koku almada sorun oluşmaktadır. Üst solunum yolunda olan enfeksiyonların kontrol altına alınması için alt solunum yolundaki enfeksiyonların tekrarlamasını önlemek büyük fark oluşturacaktır. Kistik fibroziste morbidite ve mortalitenin en önemli nedeni ilerleyici akciğer hastalığıdır. Hastalığa bağlı olarak ölümlerin %80’inden akciğer tutulumu sorumludur. Solunum yollarındaki viskozitesi çoğalan salgılar, mukosilyer aktiviteyi bozarak bakteriyel enfeksiyonun gelişmesine yol açmaktadır. KF hastalarında akciğer enfeksiyonu ve bakteri kolonizasyonu yaşla ilgili olarak değişiklik göstermekte ve belli bir patojenlerle oluşmaktadır. Hastalığın ilk evrelerinde en çok izole olunan patojenler *S. aureus*’la birlikte tiplendirilemeyen *H. influenzae* olarak bilinmektedir. Daha fazla ilerleyen zamanlarda ise *P. aeruginosa* enfeksiyonları görülmektedir. *P. aeruginosa* suşları polisakkaritten oluşmuş bir tabaka ile kaplandığında mukoid forma çevrilirler ve mukoid olan suşların parçalanması oldukça zordur.

Klinik akış bozulur ve *P. aeruginosa* akciğerlerde bir kez kolonizasyon oluşturursa bu zaman eradikasyonu neredeyse imkansız hale dönüşür (9,10,52).

### **Gastrointestinal Sistem Tutulumu**

KF hastalarında oluşan gastrointestinal sistem tutulumu, koyulaşmış ve yapışkan olan salgılarına bağlı gelişmekte olup, gastrointestinal, karaciğer ve pankreas tutulumunu öne çıkarmaktadır. KF’de gastrointestinal sistemde olan problemler yenidoğan döneminde genellikle bağırsak obstrüksiyonu semptomları ile kendini belli eder. KF’li hastalar hayatlarının erken dönemlerinde pankreas yetmezliği ile karşılaşmaktadır (53).

### **Karaciğer Tutulumu**

Transmembran ileti regülasyon proteyini safra kanalının üstünde yerleşmekle birlikte bu hücrelerin dış kısmında hepatositlerde dahil olmakla hiçbir hücrelerde bu protein yoktur. Safra kanalına salgılanan klordaki deformasyon sonucu safra akışı azalmış oluyor ve sekresyonda dehidrate görülüyor. Obstrüksiyon sebebi ile serbest radikal hasarı, safra asiti retansiyonu ve kollajen sentezi artışı görülür. Böylece karaciğerde siroz ve fokal nekroz gelişir (54).

## **2.5. Kistik Fibrozis Hastalığının Epidemiyolojisi**

Kistik fibrozisin görülme oranı etnik gruplar arasında değişim göstermektedir. Kuzey Avrupadaki ırkların bireylerinde çok sık rastlanmakla birlikte, Güney Avrupa’da ve Amerikadaki Asyalı ve Afrikalı gruplarda da önemli dereceye ulaşmaktadır (55).

Dünya genelinde 60.000’e yakın Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) ise 30.000, KF’li hasta olduğu bildirilmiştir. Bundan başka yaklaşık 7.000.000 kişinin de asemptomatik olan heterozigot taşıyıcı olması düşünülmektedir. KF hastalarında ortalama yaş 29 senenin üzerinde olup 1/3 ünün de erişkin insanlar olduğu belirtilmektedir (56). Kuzeydoğu, Batı, Orta ve Kuzey Avrupada KFTR’yi kodlayan gen mutasyonunun çoğunluğunun homojen şekilde olduğu ifade olunmaktadır.  $\Delta F508$  mutasyonunun görülme oranı Danimarka’nın Faroe adalarında %100’e ulaşırken Türkiye için bu % 24,5 gibi bir sıklıkta rastlanmaktadır (57).

## **2.6. Kistik Fibrozis Hastalığının Tedavisi**

KF hastalığının tedavisinde son zamanlarda büyük bir ilerleme kaydedilmiştir. Genel olarak etkinliğini korumakta olan ve uygulanması devam ettirilen inhalasyon ajanları, solunum fizyoterapisi, mukolitikler, pankreatik enzim replasmanı, antienflamatuvar tedaviler, kendi yerini halen korumaktadır (58).

### 2.6.1. Akciğer Hastalığı Tedavisi

Kistik fibrozis'li hastaların mortalitesi ve morbiditenin en büyük sebebi akciğer tutulumudur. Bu nedenle akciğer enflamasyonunun ortaya çıkmasına neden olan mekanizmaların engellenmesi gerekmektedir. Solunum sistemine yapılmakta olan tedaviler KF'li hastalarda yapılan temel tedavilerden biridir. Akciğer hastalığında yapılan tedavilerin ilkinde, mukolitik ajanlar, fizyoterapi, antibiyotikler, anti-inflamatuvar ajanların kullanımı uygulaması gelmektedir (59). KF'li hastaların yaşam kalitesinin giderek artmasında beslenmenin düzene sokulması, genel bakım kurallarının ihmal edilmemesi gibi faktörlerle birlikte, antibiyotiklerin daha düzenli ve etkin şekilde kullanılması da büyük önem taşımaktadır. Antibiyotik tedavisi akut akciğer enfeksiyonu teşhisi veya solunum yolu örneğinin araştırılması sonucu mikroorganizma saptanmışsa uygulanabilir. Balgam örneğinin ve boğaz kültürünün incelenmesi, hastanın hangi antibiyotiği kullanacağı konusunda doktora yardım etmektedir. Antibiyotik tedavisi sırasında dikkat edilmesi gereken direnç gelişimini önlemek için kombine tedavi yapılması önerilmektedir ve bu ajanların 2-3 hafta aralıkla kullanılması gerekmektedir (60).

*S. aureus* enfeksiyonları için oral antibiyotikler kullanılır. Nafsilin, sefazolin, klindamisin, flukloksasilin, fusidik asit gibi antibiyotikler kullanılabilir. MRSA enfeksiyonları olduğunda ise linezolid, vankomisin, teikoplanin, tedavisi uygulanması tedavi protokollerinde yer almaktadır.

*P. aeruginosa* enfeksiyonu; Kolistin ve tobramisin kullanılması yaygın durumdur ancak ağır klinik tablo oluşturan olgularda ise çoğunlukla ilk seçim aminoglikozidlerle beta laktam grubu antibiyotiklerin kullanılması ile oluşan kombine tedavilerdir. Tedavi süreci, 2-4 haftayı kapsamaktadır (60,61).

Akciğer transplantasyonu: Son dönemlerde, akciğer hastalığı görülen KF'li hastalarda sağkalım sürecini ve yaşam standartlarını yükselten önemli bir tedavi yöntemi olarak akciğer

transplantasyonu söylenebilmektedir. Bu hastaların transplantasyon sonrasında sağkalım oranları %60-70'lere yükselmektedir (62).

## 2.7. Bakteriyofaj ve KF ile ilişkisi

Bakterilerde zorunlu parazit olarak bilinen bakteriyofajlar, yalnız canlı bakteri hücresi içinde çoğalabilirler. Konağa özgüdürler; yani her bir bakteriyofaj sadece kendisine uygun bakteriyi enfekte edebilir (63). 1917 yılında d'Hérelle ve 1915 yılında Twort tarafından bakteriyofajlar (fajlar) birbirlerinden habersiz şekilde keşfedilmesinden kısa dönem sonra, fajlar antibakteriyeller olarak geniş kapsamda uygulanmıştır. Fajlar, yer yüzünde en çok bulunmakta olan canlılardır; konum olarak her yerde denizlerde, okyanuslarda, toprakta oldukça fazla miktarda bulunmaktadır. Antibiyotiklerin keşfi ile birlikte, Batı dünyasında fajlar büyük bir kısımda unutulmuştur. Günümüzde ise özellikle çoklu ilaç dirençli olan (MDR) bakteriler güncel bir sorun haline oluşturmaktadır. *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus spp.* bakterileri, Dünya Sağlık Örgütü'nde (DSÖ) yeni antibiyotik türlerinin araştırılması ve geliştirilmesi için önemli patojenler listesini oluşturmaktadır. Antibiyotik direnciyle savaşmak için sağlık hizmetlerinin maliyetleri şaşırtıcıdır. Tahmini yıllık harcanan kaynak Avrupa'da 1,5 milyar avro, ABD'de 77,7 milyar dolar ve Kanada'da 200 milyon dolara kadardır (64,65).

Günümüzde antibiyotik direnci probleminin çözümüne ulaşabilmek için alternatif arayışlar sürdürülmüştür. Böylece Batıda unutilan fajlar tekrar gündeme gelmeye başlamıştır.

Polonya'daki İmmünoloji ve Deneysel Terapi Enstitüsü ve Gürcistanda olan Eliava Enstitüsü'nde, farklı bakteriyel patojenlere yönelik faj kokteylleri yapılarak, uzun yıllardır tedavide kullanılmaktadır. Batıda birçok ülkede faj terapi çalışması klinikte uygulanmaya başlanmıştır. Dünyada faj ajanlarının gelişmesine yönelik merkezler ABD, Gürcistan, Polonya, Belçika, Avustralya, Finlandiya gibi birçok ülkede faj terapi ünitesi yapılmaktadır (66).

Faj kokteylleri, geniş bir bakteriyel suş yelpazesini hedefleyebilen bir tedavi stratejisi olarak öne çıkar. Bu tür kokteyller, tek bir faj ile tedaviye kıyasla, fajlara karşı direnç geliştiren bakteriyel mutasyonların oluşumunu azaltabilir ve bakterilerin öldürülme hızını artırabilir. Bu özellik, bakteriyofajların tedavi edici potansiyelini önemli ölçüde artırmaktadır (67). Kistik fibrozis hastalarında en yaygın olarak karşılaşılan enfeksiyöz patojenler arasında *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* bulunmaktadır. Bu hastalar genellikle

sürekli antibiyotik tedavisi görmekte ve bu durum, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'un çoklu ilaç dirençli (MDR) suşları ile enfekte olmalarına neden olmaktadır. Bu dirençli suşlar, global çapta antibiyotik direnci sorununu artırmakta ve antibiyotiklerin etkin olmalarını sınırlamaktadır (68). Bu bakımdan, alternatif tedavi yöntemlerine ihtiyaç artmıştır. Faj terapisi, antibiyotiklere dirençli bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede umut verici bir seçenek olarak değerlendirilmektedir (69).

Fajların kendi kendine çoğalabilmesi, özgül olan hedeflere etkin olması ve vücudun her tarafına ulaşılabilir olması onların antibiyotiklere üstünlük sağladığının göstergesidir. Faj tedavisi özgül şekilde patojeni yok ederek mikrobiyotaya zarar vermemesi, fiziksel bariyerlerden kolay bir şekilde geçiş yapması ve konağın her bir bölgesine ulaşım sağlaması, hedef organizmayı öldürdükten sonra ortadan kaybolması gibi birçok üstünlüğe sahiptir (70). Faj tedavisinde bulunan yeni fajların uygulanması, teknolojinin gelişmesiyle genişlemektedir. Günümüzde antibiyotik direncindeki artış alternatif bir tedavi olarak faj tedavisinin geliştirilmesinde büyük bir güç olacağı ön görülmektedir (68,71).

### **2.7.1 Akciğer Enfeksiyonlarında Faj Tedavisi**

Faj tedavisinin akciğer hastalıklarında uygulanması ile ilgili örnekler Abedon (72) ve Abedon ve ark. (73,74) tarafından gözlemlenmiştir. İlk önce yapılan araştırma faj tedavisinin antibakteriyel etkinliği ile ilgili olmuştur (75). İlk yapılmış çalışmalar, 1936 yılında Morrison ve Gardner tarafından yapılmıştır. Bacillus kaynaklı olan akciğer hastasına bölgesel faj tedavi uygulaması yapılmış ve tam başarı elde edilmiştir. 1938 senesinde ise Shiskenko tarafından, yenidoğanlarda ve çocuk hastalarda stafilokok kaynaklı enfeksiyonlarda topikal olan faj tedavisinin etkinliği araştırılmıştır (76).

Akciğer enfeksiyonlarında fajlarla tedavide, fajlar çoğunlukla sistemik, topikal veya oral yoldan uygulanmıştır. Akciğer enfeksiyonunun fare modelindeki fajlarla olan tedavisinde sistemik (parenteral) ve topikal faj uygulanması tek tek ya da birlikte yapılabilmektedir. Bazı zamanlarda direkt enjeksiyon da uygulanabilir (77).

Topikal tedavi zamanı, dozu yüksek olan viriyonlar güvenli ve basit şekilde uygulanabilmektedir. Fajın hedef bölgeye direkt uygulanması, bu bölgede olan faj konsantrasyonunda etkin düzeyde artış sağlar ve alternatif uygulamalar kullanılmıyorsa tercih edilir. (78).

Oral yol uygulamasında ise, fajlar ilk önce sindirimde yaşamını sürdürmeli ve daha sonra kanla karışmalıdır. Bağırsakta emilme düşük seviyede olduğundan faj kaybı çoktur (79).

Sistemik tedavide, fajın kanla birlikte enfekte olan akciğer dokularına geçiş yapması ve bakterileri yok edecek dozda bulunması beklenir. Akciğer dokusundaki bakteriyel enfeksiyon dokuda geçirgenliği arttırabildiği için, kandan zarar görmüş dokuya faj penetrasyonunu arttırmakta ve buradaki konak bakterinin var olması fajların geçtikten sonra yüksek miktara ulaşımını sağlayabilmektedir (78).

Son zamanlarda, antibiyotik dirençli akciğer enfeksiyonlarını tedavi etmek için uygulanmakta olan faj terapisi vakaları, bu yöntemin yenilikçi ve etkili bir alternatif olabileceğini ortaya koymuştur. Bu vaka raporları, faj terapisi konusundaki yenilikçi yaklaşımların ve hasta verilerinin titiz bir şekilde toplanarak klinik yararın değerlendirildiği bir sürecin başladığını göstermektedir. Ayrıca, temel araştırmaların bu bağlamda önemli bir rol oynadığı vurgulanmalıdır. Özellikle, fajların tek başına, sıralı olarak veya karışımlar halinde (kokteyller) kullanıldığında hedef bakteriyel patojenler üzerinde nasıl bir etki yarattığının daha iyi anlaşılması gerekmektedir (80).

### 3. YÖNTEM

#### 3.1 KULLANILAN ARAÇ ve GEREÇLER

- Steril plastik öze (Looplast,Italy)
- Otoklav
- Güvenlik kabini
- Hassas terazi
- Pipet uçları (10-200-1000 µL)
- Cam tüp
- 50 ml steril Falkon tüpü
- Eppendorf tüpler
- Steril öze (Tek kullanımlık)
- Steril eküvyon (Tek kullanımlık)
- Filtre/ 0.22 µm

#### 3.2. Kullanılan Besiyerleri

%5 Koyun Kanlı Agar (BioMerieux, Fransa)

MacConkey Agar (BioMerieux, Fransa)

Çikolata agar

Mueller Hinton Agar

Burkholderia cepacia selektif agar

Mannitol tuzlu agar

Triptik Soy Agar (TSA)

Triptik Soy Broth (TSB)

Dip agar

Top agar

### **3.3. Kullanılan Kimyasallar**

CaCl<sub>2</sub>

Lamda SM

Jelatin

#### **3.1.2. Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması**

Hazır şekilde olan toz besiyerleri firma önerilerine göre hazırlanmıştır. 121°C'de 15 dakika, otoklavda sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

### **3.2 Yöntemler**

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Çocuk Göğüs Hastalıkları polikliniğinde 2024 yılında KF tanısı ile takip edilen 100 hastanın örnekleri mikrobiyoloji laboratuvarımıza rutin kültür için gönderilmiştir. Ayrıca, laboratuvarımızda KF hastalarından izole edilmiş suşlardan bakteriyofaj izolasyonu, zenginleştirilmesi ve saflaştırılması protokolü uygulanıp elde edilen fajların in vitro değerlendirilmesi için spot test yapılmıştır.

#### **3.2.1. Bakterilerin Tanımlanması**

Bakterilerin tanımlanma sürecinde konvansiyonel ve otomatik yöntemlerden olan VİTEK2 (Biomerieux) ve Maldi-Tof (Bruker) kullanıldı.

### **3.2.2. Konvansiyonel yöntemler**

#### **3.2.2.1. Kültür Yöntemleri**

Balgam ve trakeal aspirasyon gibi solunum örnekleri, 1 adet kanlı besiyerine, 1 adet çikolatamsı agara, MacConkey besiyerine, Mannitol agar besiyerine ve Burkholderia cepacia besiyerine ekim yapıldı. Kolonilerin morfolojik özellikleri, büyüklükleri, renkleri ve kıvamları gözlemlendi.  $\beta$  hemolitik streptokoklar, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* türleri, *Burkholderia cepacia*, *Haemophilus influenzae* klasik yöntemlerle tanımlandı.

Tanımlanamayan koloniler ise otomatize sistem ile çalışıldı. Üreyen difteroid çomaklar, koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), neisseria türleri ve alfa hemolitik streptokok türleri normal flora bakterileri olarak değerlendirildi.

Seçici besiyerlerden biri olan Mannitol agar besiyerinde *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokokların ayırımında kullanılmıştır (KNS). Bu besiyerinde, mannitol fermentasyonu sonucunda renk değişimi oluşmaktadır.

Mannitol agarda üreyen *Staphylococcus aureus* kolonilerinden DNZ testi yapıldı. Üreyen *Staphylococcus aureus*'un MRSA veya MSSA olduğunu belirlemek için ise sefoksitin direncine bakıldı.

Kistik fibrozis hastalarında etken olan *Burkholderia cepacia* suşlarını izole etmek için izole etmek için seçici besiyerlerden biri olan Burkholderia cepacia besiyeri kullanıldı.

#### **3.1.3. Antibiyotik Duyarlılık Testi**

Antibiyotik duyarlılık testi disk difüzyon yöntemi ile yapıldı. Bakterilerin antibiyotiklere karşı olan duyarlılığını belirlemek için antibiyotik diskleri kullanılmıştır ve EUCAST standartlarına göre yorumlanmıştır (81).

#### **3.2.3. Otomatize yöntem.**

Mikroorganizmaların tanımlanmasında MALDI-TOF kütle spektrometrisi ve VITEK sistemleri kullanılmıştır. Bu yöntemde, "matriks" olarak adlandırılan bir kimyasal yüzey üzerine, 24 saati

dolmamış bakteriyel kültürden yayma uygulanmaktadır. Matriks üzerinden geçen iyonizasyon yapan lazer ışığı ile etkileşim sağlandıktan sonra, matriks üzerindeki farklı moleküler yapıların ışığı emme farklılıklarına göre bir spektrum oluşturulmaktadır. Elde edilen bu profiller, referans spektrumlarla karşılaştırılarak mikroorganizmaların tanımlanması gerçekleştirilmektedir.

### 3.3. Faj izolasyonu

#### Ön hazırlık

Çalışmaya alınan KF'li hastaların dirençli suşlarından faj izolasyonu yapıldı. Suşların çoğaltma işlemi Triptik Soy Broth (TSB)'da yapılmıştır. Katı besiyeri olarak ise Triptik Soy Agar (TSA) kullanıldı. 10ml sıvı besiyerine alınan suşlar 37C<sup>0</sup> lik etüvde inkübe edildi.

Elli ml'lik falkon tüplerine 10 ml DSB (normal broth miktarının 2 katı), 10ml atık su, 100µl sıvı besiyerine aldığımız bakteriyi ilave edip 24saat 37C<sup>0</sup> etüvde inkübe edildi. Daha sonra 10000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant sıvıyı 10ml'lik enjektörle çekip, 0,22mm'lik filtreden geçirildi ve tüplere koyuldu.

#### Spot test aşaması

Hazırlanan dip agara 100ml bakteri suspansyonu koyup yayma metoduyla ekildi. Üzerine süpernatantdan 5 mikrolitre alınarak birkaç bölgeye damlatıldı. İşlem sonrası petriyer oda ısısında kuruması için yarım saat bekletildi. Daha sonra 24saat 37C<sup>0</sup> lik etüve kaldırıldı. Eğer ortamda litik faj mevcut ise petriyerde litik alanlar (boşluklar) görülür (resim 4.10).

#### Saline Magnezyum (SM) Lam dilüsyon aşaması

24 saat sonra Dip agar üzerinde plaklar oluşmuşsa SM deneyi yapıldı.

SM içeriği

- NaCl-5,8 gr

- MgSO<sub>4</sub> –2 gr
- 1M Tris-HCl-50 ml
- %2 Jelatin-5 ml

%2 jelatin elde etmek için 2 gr jelatin ve 100 ml distille su kullanılmıştır. Bir M Tris HCl içinse 1,2 gr Tris ve 90 ml distille su gerekmektedir. Ph'sının 7.6 ya ayarlanması mutlaktır. Karışım otoklav süresin geçirdikten sonra 3-4 ml SM petrilere döküldü. 2-3 saat bekletildikten sonra oluşan sıvı 1000 µl'lik pipetle falkonlara toplandı ve santrifüj edildi. Sonrasında filtrelenerek 10 ml'lik falkonlarda dolaba kaldırıldı.

### 3.4. Faj genom analizi

Faj genom dizilemesi Illumina cihazında Genera firmasında hizmet alımı şeklinde çalışılmıştır. Elde edilen ham dizilerin kalite kontrolü FastQC (v0.11.750) programı ile yapılmıştır (82). Kötü kalitedeki okumalar ve barkod dizileri Trimmomatic (v0.40) programı ile yapılmıştır (83). Konak bakteriye ait okumalar Bowtie2 ve Samtools programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (84,85). Faja ait genom assemblisi (genom birleştirme) MegaHit assembler (v1.2.9) programı ile yapılmıştır (86). Elde edilen faj genom dizilerindeki proteinler PROKKA (v1.12) yardımı ile belirlenmiştir (87). Tespit edilen proteinlerin tanımlanması BLASTp programı ile NCBI protein veri bankasında taranmıştır (88). Filogenetik ağaç ve tüm genom karşılaştırılması ViPTree web sitesinde diğer virüslerle karşılaştırılarak elde edilmiştir (89). Elde edilen virüslerin genom haritası DNAPlotter modülü ile hazırlanmıştır (90).

### 3.5. İstatistiksel Analiz

Yaş grupları arasındaki antibiyotiklere karşı direnç profillerinin anlamlı fark olup olmadığının, istatistiksel hesapları Pearson's Chi kare testi ile hesaplanmıştır. P değeri 0.05 ten küçük (P<0.05) olanlar istatistiksel açıdan anlamlı olduğu kabul edilmiştir. R version 4.2.1 programa dili ile hesaplanmıştır.

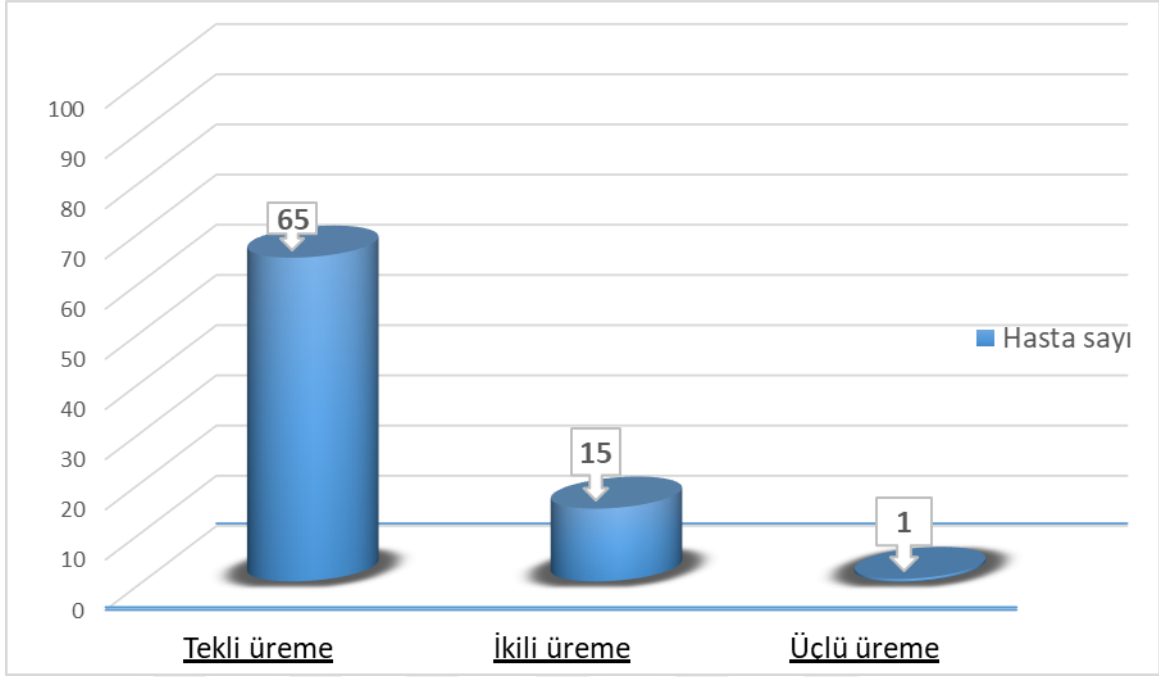
#### 4. BULGULAR

Mayıs 2024- Eylül 2024 zaman aralığında İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Çocuk Göğüs Hastalıkları Kliniğinden 100 kistik fibrozis tanısı almış hastanın solunum yolu örnekleri mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiştir. KF'li hastaların 46'sı (%46) erkek, 54'ü (%54) kadındır. K/E oranı 1,17'dir.



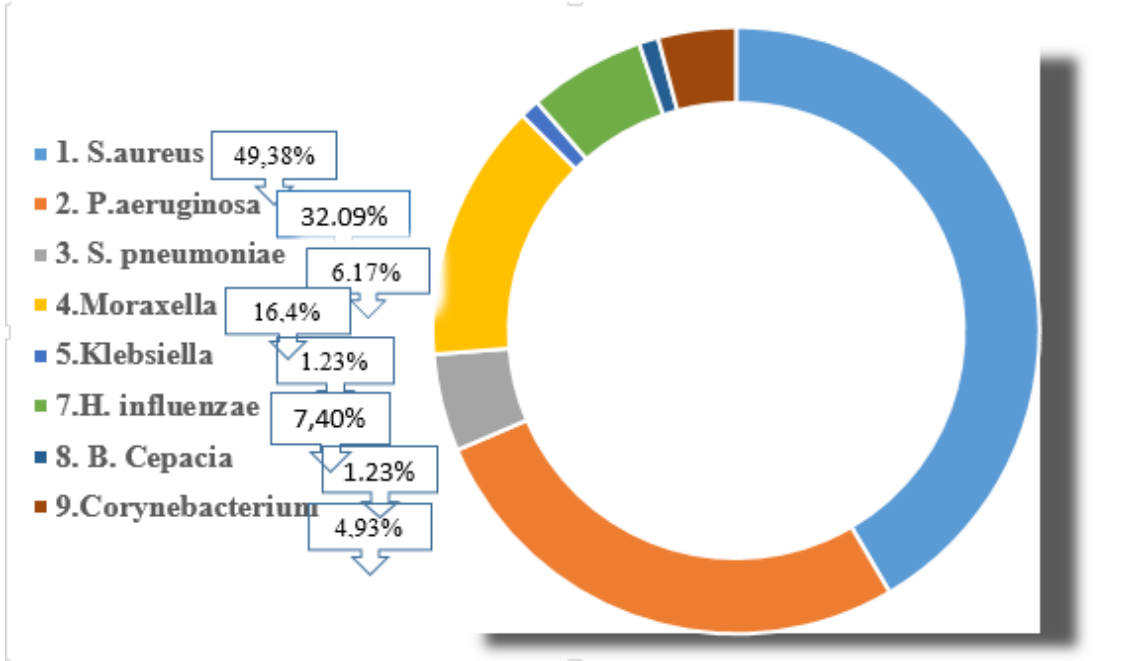
**Şekil 4.1.** KF hastalarının cinsiyete göre dağılımı

Çalışmaya dahil edilen 100 hastadan 81 hastada bakteri üredi. Bu hastalar arasında 65'inde bir tip bakteri, 15'inde iki tip, birinde ise üç tip tespit edildi. On dokuz hastada ise hiç bakteri üremedi ya da sadece flora bakterileri üredi.

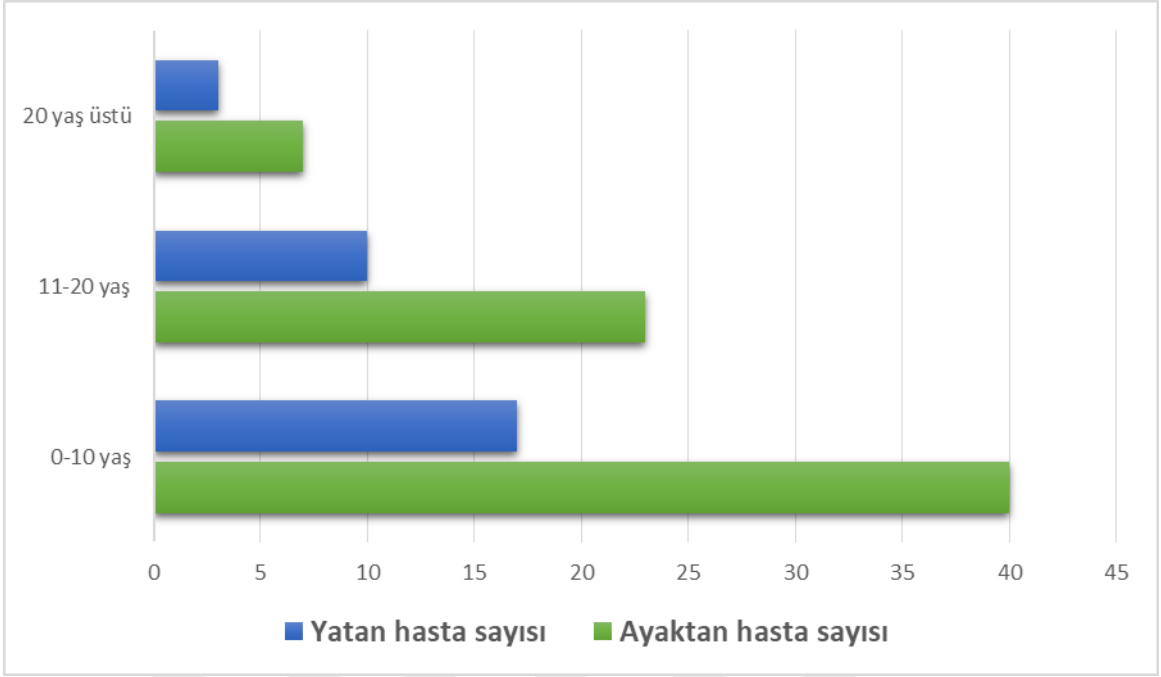


Şekil 4.2. Hasta sayının üreyen mikroorganizma sayısı ile ilişkisi

İncelenen örneklerin 68'i (%68) Balgam örneği, 32'i (%32) ise Transtrakeal aspirasyon örneği olarak geldi. Bu örneklerden üremiş olan bakteri sayısı 98 olmuştur. Vakaların balgam, trakeal aspirasyon kültürlerinde *S.aureus*, *P.aeruginosa* gibi mikroorganizmaların daha sık ürediği tespit edilmiştir. Örneklerde saptanan bakterilerin sonuçlarının dağılımı Şekil 4.3'te verilmiştir.

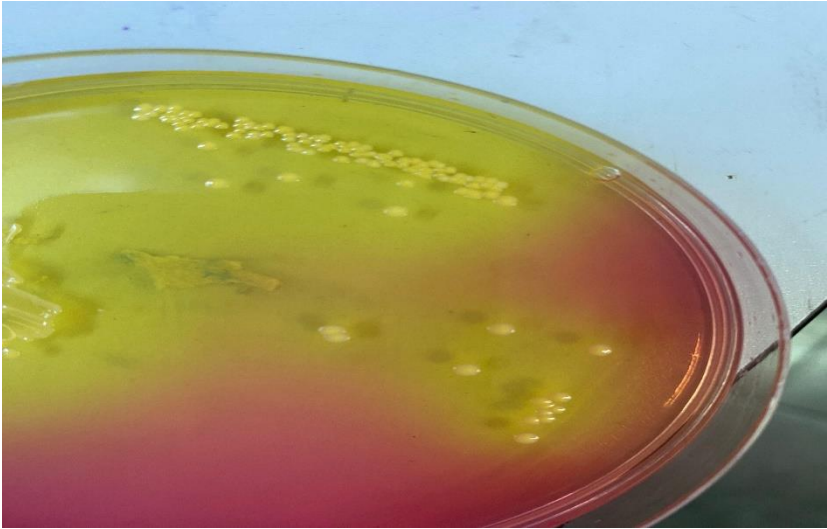


Şekil 4.3. Hasta örneklerinde üreyen bakteri türlerinin dağılımı



**Tablo 4.1.** Kistik Fibrozisli Hastaların Yaş Gruplarına Göre Yatan ve Ayaktan Hasta Dağılımı

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş gruplarına göre yatan ya da ayaktan hasta olma durumları Tablo 4.1’de sunulmuştur.



**Şekil 4.4.** Mannitol agar besiyerinde *Staphylococcus aureus* görüntüsü

Resimde (şekil 4.4) *Staphylococcus aureus* kolonileri, fermentasyon sonucu sarı renkte görülmektedir.



**Şekil 4.5.** Mannitol agar besiyerinde koagülaz negatif stafilokok (KNS) görüntüsü

Koagülaz negatif stafilokok (KNS) ürettiğinde, besiyerinin renginin değişmediği gözlemlenmektedir (şekil 4.5).



**Şekil 4.6.** Burkholderia cepacia selektif besiyerinde üreme

Şekil 4.6'da B.cepacia kolonilerinin besiyerinde üreyen kahverengi ve sarı tonlarındaki kolonileri izleniyor.

Antibiyotik	Dirençli izolat n (%)	Orta duyarlı izolat n (%)	Duyarlı izolat n (%)
Vankomisin	0 (0%)	0 (0%)	100 (%100)
Rifampisin	4 (%10)	0 (0%)	36 (%90)
Linezolid	0 (0%)	0 (0%)	100 (%100)
Klindamisin	17 (%42,5)	0 (0%)	23 (%57,5)
Metisilin	13 (%32,5)	0 (0%)	27 (%67,5)
Teikoplanin	0 (0%)	0 (0%)	100 (%100)
Eritromisin	20 (%50)	0 (0%)	20 (%50)
Tetrasiklin	9 (%22,5)	0 (0%)	31 (%77,5)
Ciprofloksacin	3 (%7,5)	32 (%80)	5 (%12,5)
Trimetoprim/sülfametoksazol	2 (%5)	0 (0%)	38 (%95)

**Tablo 4.2.** *Staphylococcus aureus* suşlarında çeşitli antibiyotiklere karşı antibiyotik direnç oranları

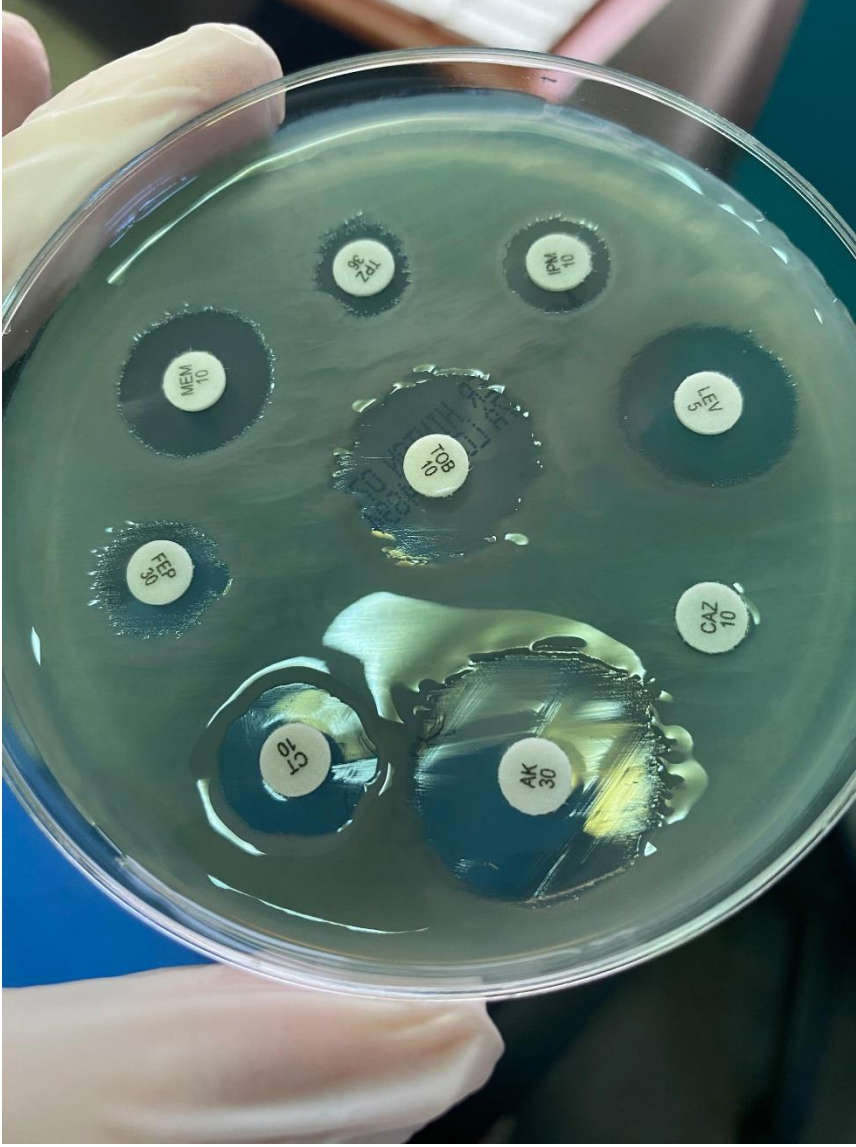
Kırk *S. aureus* suşundan 13 kökünde (%32,5) metisilin direnci saptanmıştır. En yüksek direnç oranı eritromisine (%50) karşı bulunmuştur.

Antibiyotik	Dirençli izolat n (%)	Orta duyarlı izolat n (%)	Duyarlı izolat n (%)
Meropenem	0 (0%)	0 (0%)	100 (%100)
İmipenem	5 (%19,23)	21 (%80,77)	0 (0%)
Levoflaksın	5 (%19,23)	21 (%80,77)	0 (0%)
Tobramisin	7 (%26,92)	0 (0%)	19 (%73,08)
Cefepime	6 (%23,07)	20 (%76,93)	0 (0%)
Ceftazidime	5 (%19,23)	21 (%80,77)	0 (0%)
Amikasin	7 (%26,92)	0 (0%)	19 (%73,08)
Piperasilin	2 (%7,69)	24 (%92,30)	0 (0%)

**Tablo 4.3.** *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında çeşitli antibiyotiklere karşı antibiyotik direnç oranları

*P. aeruginosa* suşlarına karşı en etkili antibiyotik meropenem olarak bulundu.

İzole edilmiş *P. aeruginosa* izolatlarından 10 (%38,46) izolat mukoid yapıda olduğu saptandı.



Şekil 4.7. *P. aeruginosa*'nın suşlarında görülen mukoid formu

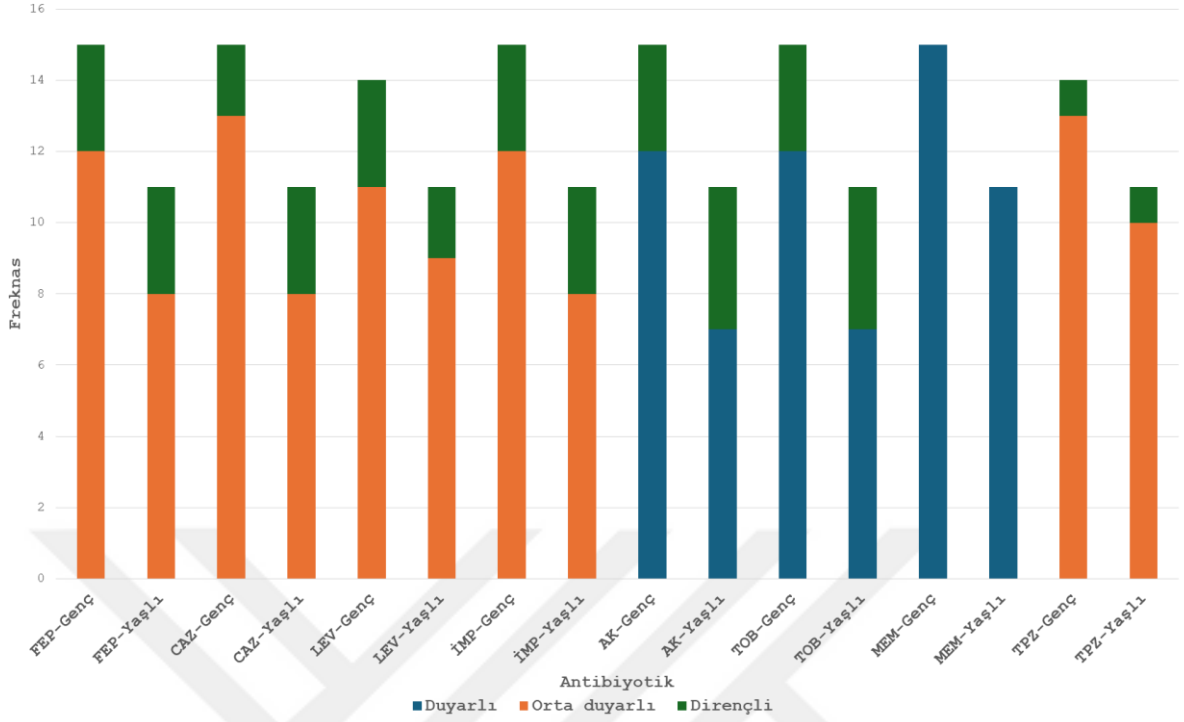
Veri Seti	Ki-kare ( $X^2$ ) Değeri	Serbestlik Derecesi (df)	p-değeri
Psa/cefepime	0	1	1
Psa/ceftazidime	0.15007	1	0.6985
Psa/ levofloksasin	6.4031e-31	1	1
Psa/amikacin	0.23222	1	0.6299
Psa/imipenem	1.616e-31	1	1
Psa/tobramisin	0.23222	1	0.6299
Psa/meropenem	NaN	1	NA
Psa/piperasilin	1.3907e-30	1	1
Psa/total	1.1535	2	0.5617

**Tablo 4.4.** *P.aeruginosa* 'da ki-kare testi sonucu

Tablo 1'de gösterilen veriler, PSA verilerine uygulanan ki-kare bağımsızlık testlerinin sonuçlarını göstermektedir. Yapılmış testlerde, 0-15 yaş ve 15 yaş üstü gruplar arasındaki antibiyotik direnç profillerinin arasında anlamlı fark olup olmadığının gözden geçirmek için iki kategorik değişken karşılaştırıldı ve bağımsız olup olmadığını belirlemek için Pearson Ki-kare testi kullanılmıştır.

**psa/feb** verisi için ki-kare değeri  $X^2=0$ , serbestlik derecesi  $df=1$  ve p-değeri 1 olarak hesaplanmıştır. Ki-kare testinde, p-değeri genellikle 0.05'ten küçükse sonuç anlamlı kabul edilir. Bu durumda, p-değeri 1 olduğundan, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır. Bu sonuç, baz alınan iki değişkenin bağımsız olduğunu göstermektedir.

Diğer yandan, **psa/lev**, **psa/imp**, **psa/ak**, **psa/tob**, **psa/mem**, **psa/tpz** ve **psa/caz** veri gruplarında p-değerleri aynı şekilde 0.05'in üzerinde bulunmuş ve anlamsız bir ilişki gözlemlenmiştir.



**Tablo 4.5** *Pseudomonas aeruginosa* suçları direnç grafiği

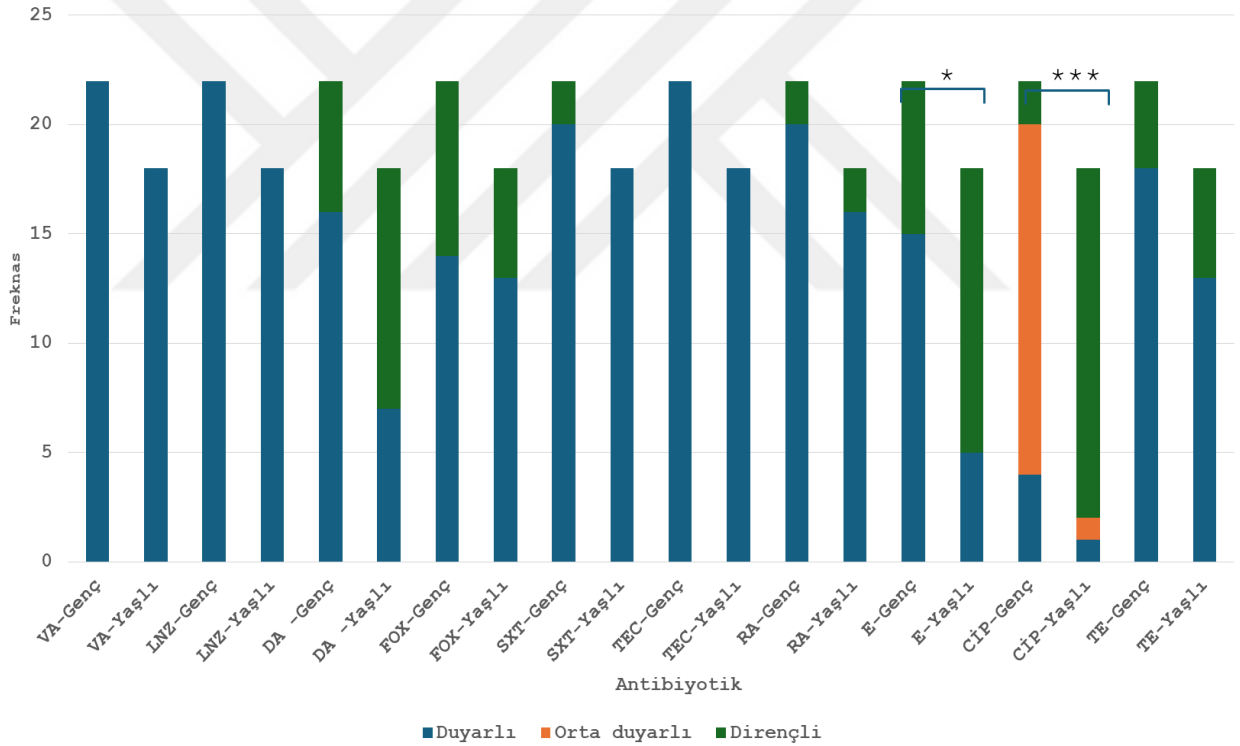
Veri Seti	Ki-kare ( $X^2$ ) Değeri	Serbestlik Derecesi (df)	p-değeri
Staf/va	NaN	1	NA
Staf /lnz	NaN	1	NA
Staf /da	3.3574	1	0.06691
Staf /fox	0.056405	1	0.8123
Staf /sxt	0.34024	1	0.5597
Staf /tec	NaN	1	NA
Staf /ra	6.0509e-31	1	1
Staf /e	4.9495	1	0.0261
Staf/cip	25.782	2	2.521e-06
Staf/te	0.1173	1	0.732
Staf/total	3.6189	2	0.1637

**Tablo 4.6.** *S.aureus* 'da ki-kare testi sonucu

**Tablo 2'**de, staf verileri için yapılan ki-kare testlerinin sonuçları özetlenmiştir. Tablodan görüldüğü gibi **staf/e** verisi için yapılan ki-kare testi sonucu  $X^2=4.9495$ , serbestlik derecesi  $df=1$  ve p-değeri 0.0261 olarak hesaplanmıştır. Bu p-değeri 0.05'in altında olduğu için, veriler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır.

**Staf/cip** verisi için  $X^2=25.782$  serbestlik derecesi  $2df=2$  ve p-değeri  $2.521e-06$  olarak bulunmuştur. Bu sonuç, son derece anlamlıdır ( $p < 0.05$ ) ve incelenen değişkenler arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir.

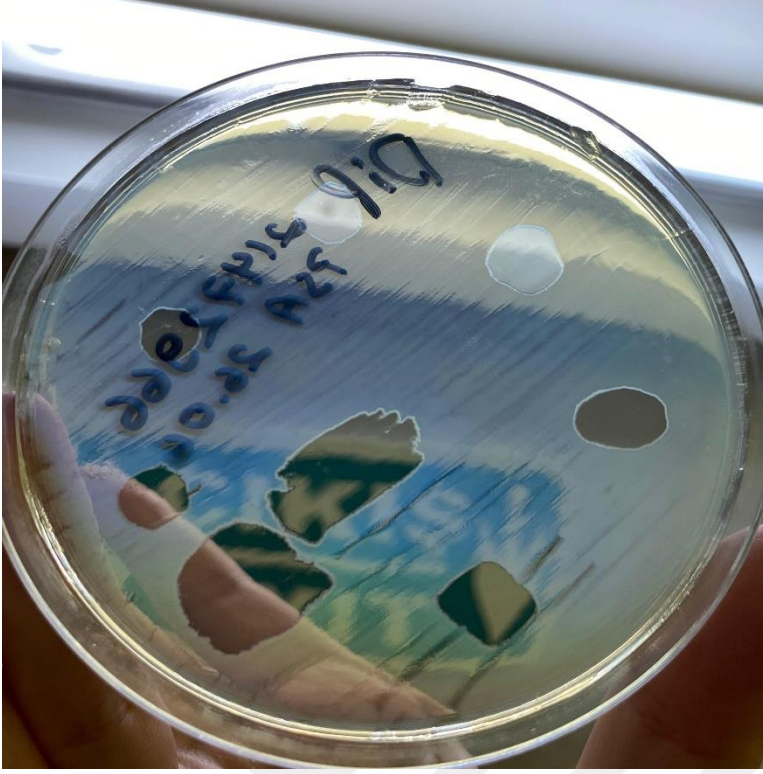
Diğer staf verileri için yapılan testlerde p-değerleri 0.05'in üzerinde bulunmuştur. Örneğin, **staf/fox** için  $p=0.8123$  ve **staf/sxt** için  $p=0.5597$  bulunmuştur. Burada p-değerlerinin 0.05'in üstünde olması, bu veriler arasında anlamlı ilişki olmadığını göstermektedir.



\*  $p < 0.05$  \*\*\*  $p < 0.001$

**Tablo 4.7** *Staphylococcus aureus* suçları direnç grafiği

Bu çalışmamızda KF'li hastalardan izole ettiğimiz bazı *P.aeruginosa* suçlarından faj izolasyonu yapıldı. İzole edilen fajlar petride litik alanlar şeklinde görüldü (şekil 4.8).

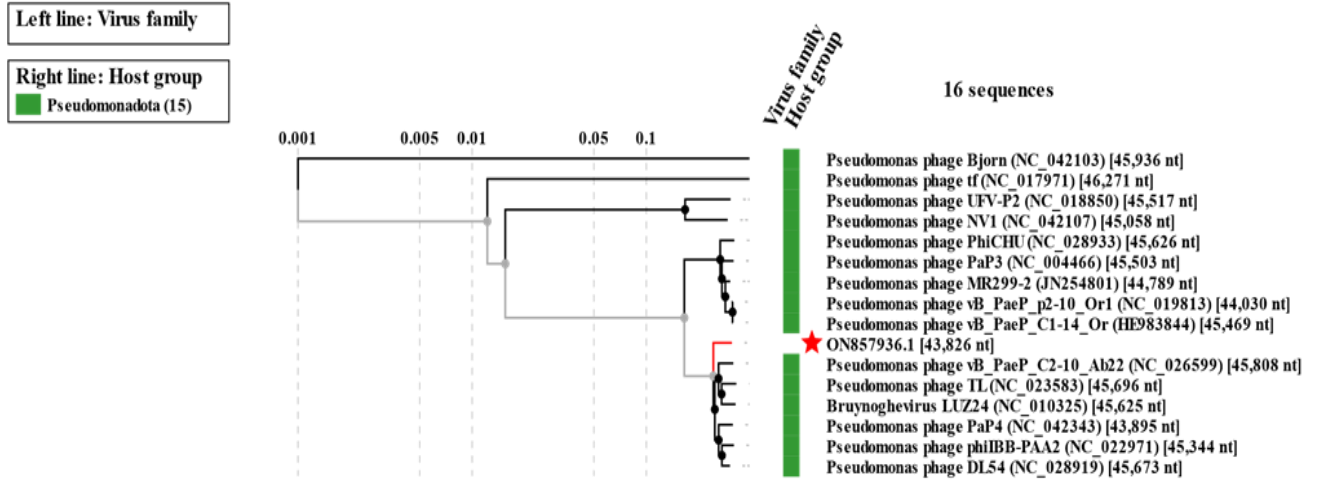


**Şekil 4.8.** Petride faj lizisi görüntüsü

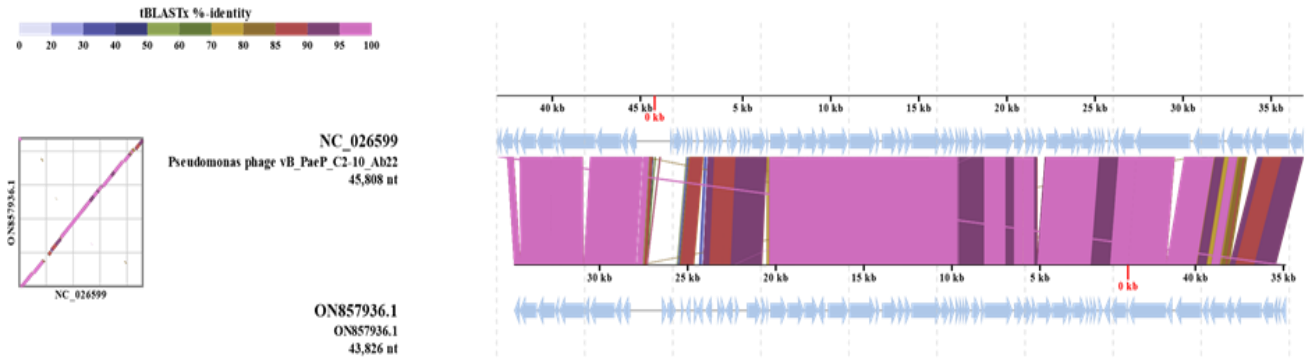
**Faj 2**, 43826 nükleotid uzunluğunda çift iplikli DNA genomuna sahiptir. Bu faja ait genom haritası ve genetik karakteristikler şekil 4.11’de gösterilmiştir. Tüm faj 2 nin NCBI refseq verilerindeki diğer bakteriyofajlarla tüm genom dizisi hizalaması, Pseudomonas phage vB\_PaeP\_FBPa29 ile maksimum benzerliği (%100 özdeşlik, %100 kapsam) paylaştığını göstermiştir (şekil 4.10). Dolayısıyla bu çalışmada, daha önce izole edilmiş ve tanımlanmış olan Pseudomonas phage vB\_PaeP\_FBPa29 tekrar izole etmiş bulunmaktayız.

Faj 2 için, tüm genom dizilerine dayalı bir filogenetik ağaç oluşturduk ve faj 2 ile diğer *P. aeruginosa* fajlarıyla yakın benzerlik gösterdi (şekil 4.9).

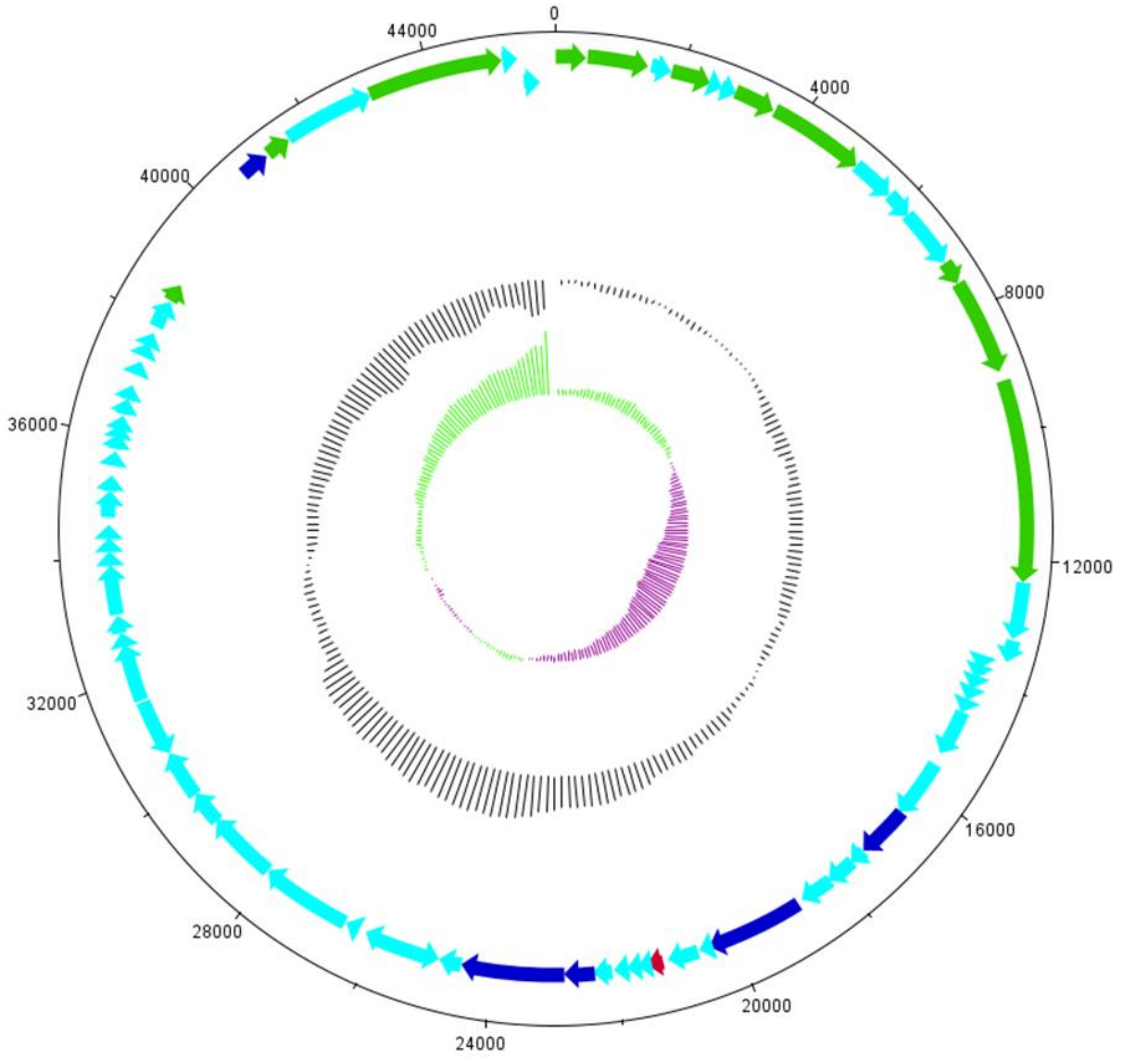
Prokka tarafından toplam 74 tahmini gen bulunmuştur. BLASTp analiz sonuçlarına göre, tahmin edilen gen ürünlerinin 11’i yapısal proteinler olarak tanımlanmıştır. P24, P28, P36, P37 DNA replikasyonunda rol alan sırasıyla ekzonükleaz, DNA polimeraz, Dna polimeraz egzonükleaz alt ünitesi ve DNA primaz/helikaz proteinlerini kodlamaktadır. P31 holin proteini olarak tanımlanmıştır. Faj 2 ye ait protein blast sonuçları ek tabloda verilmiştir.



Şekil 4.9 Faj 2 Filogenetik ağaç



Şekil 4.10 Faj 2 ile NC026599 ile tüm genom karşılaştırılması.



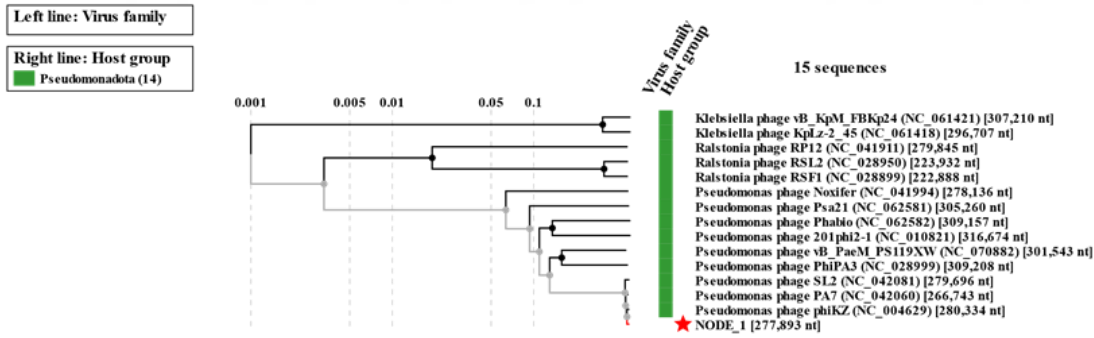
**Şekil 4.11** Faj 2'nin genom haritası.

Yeşil ve mor renkli en içteki daireler sırasıyla pozitif ve negatif GC çarpıklığını göstermektedir. Siyah daire GC içeriğini gösterir. ORF'lerin işlevsel kategorileri belirli renklerle gösterilmiştir; turkuaz mavisi ORF'ler varsayımsal proteinleri, mavi ORF'ler nükleotid düzenleme proteinlerini, yeşil ORF'ler yapı ve paketlenme proteinlerini ve kırmızı ORF'ler lizis proteinlerini temsil eder. Ölçek birimleri baz çiftleridir.

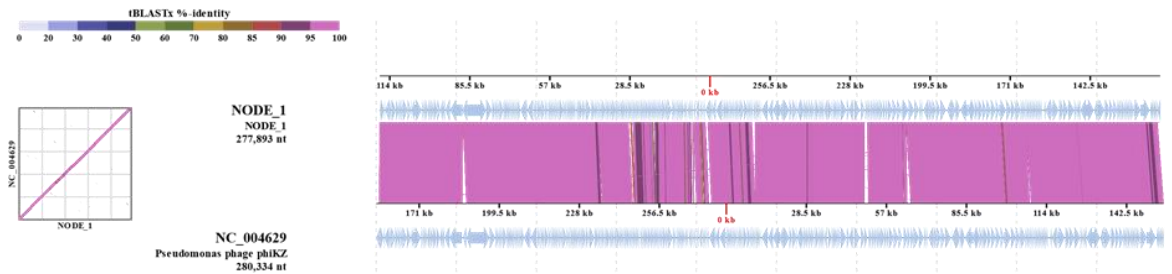
**Faj 1** 277.893 nükleotid uzunluğunda çift iplikli DNA genomuna sahip dev (giant) fajdır. Bu faja ait genom haritası ve genetik karakteristikler şekil 4.14'te gösterilmiştir. Tüm faj 1'in NCBI refseq verilerindeki diğer bakteriyofajlarla tüm genom dizisi hizalaması sonucuna göre, *Pseudomonas* phage phiKZ ile maksimum benzerliği (%100 özdeşlik, %100 kapsam) paylaştığını göstermiştir (şekil 4.13). Bu çalışmada, daha önce izole edilmiş ve tanımlanmış olan *Pseudomonas* phage PhiKZ tekrar izole edilmiştir.

Faj 1 için, tüm genom dizilerine dayalı bir filogenetik ağaç oluşturduk ve faj 1 ile diğer *P. aeruginosa* fajlarıyla yakın benzerlik gösterdi (şekil 4.12).

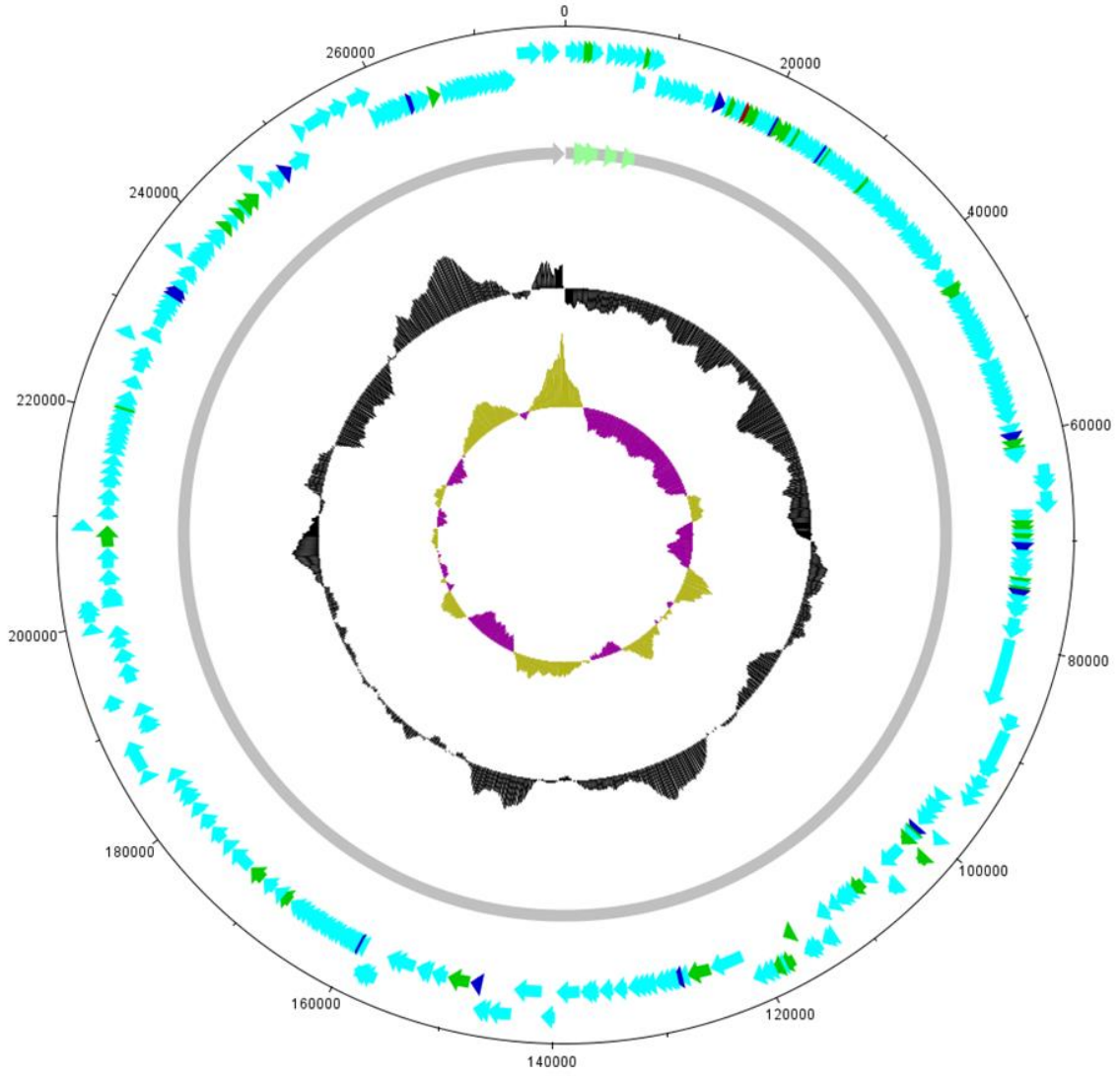
Prokka tarafından toplam 366 tahmini gen bulunmuştur. BLASTp analiz sonuçlarına göre, bu gen ürünlerinin 44'ü yapısal proteinler olarak tanımlanmıştır. P15 DNA polimeraz, p31 DNA bağlanma proteini, p43 ribonükleaz, p49 RNA polimeraz beta alt ünitesi, p58 RNase H, P141 helikaz, p149 ve p 167 RNA polimeraz beta alt ünitesi, p196 ekzonükleaz, p215 primaz, p227 DNA bağımlı RNA polimeraz Beta altünitesi, p308 RNA polimeraz beta polimeraz, p331 endonükleaz, p346 RNA polimeraz Beta gibi replikasyon ve transkripsiyonda rol oynayan genlere sahiptir. Bu faj litik etkisini Rz like spanin proteini (p36) ile sağlamaktadır. Faj 2 ye ait protein blast sonuçları ek tabloda verilmiştir.



**Şekil 4.12** Faj 1 filogenetik ağaç



**Şekil 4.13** Faj 1 ile NC004629 ile tüm genom karşılaştırılması



**Şekil 4.14** Faj 1'in genom haritası.

Yeşil ve ve mor renkli en içteki daireler sırasıyla pozitif ve negatif GC çarpıklığını göstermektedir. Siyah daire GC içeriğini gösterir. ORF'lerin işlevsel kategorileri belirli renklerle gösterilmiştir; turkuaz mavisi ORF'ler varsayımsal proteinleri, mavi ORF'ler nükleotid düzenleme proteinlerini, yeşil ORF'ler yapı ve paketlenme proteinlerini ve kırmızı ORF'ler lizis proteinlerini temsil eder. Ölçek birimleri baz çiftleridir.

İzole edilen bakteriofaj DNA'sından yüksek verimli Illumina tüm genom dizilemesini yapıldı. Toplamda 17 Gb (114933865 okuma) eşleştirilmiş uç okuması elde edilmiştir. Temizlemeden sonra toplam 110024594 okuma elde edilmiştir. Temizlemeden sonra %95,73 oranında okuma kalmıştır. Konak bakteriye ait okumalar uzaklaştırıldıktan sonra 109244751 adet okuma elde

edilmiştir. Örnekler birleştirildikten sonra, 490 contig'de toplam 426100 bp okuma elde edilmiştir. 5000 bp den küçük diziler uzaklaştırıldıktan sonra 71 contig'de toplam 956570 bp okuma elde edilmiştir. Elde edilen contiglerin bakteriyofaj genomlarına ayrılması sonucu 43826 bp uzunluğunda bakteriyofaj 2 ve 277893 bp uzunluğunda faj 1 elde edilmiştir.



## TARTIŞMA

Kistik fibrozis, otozomal resesif kalıtım gösteren yaygın bir genetik hastalıktır. Düzenli yapılan takip, erken tanı ve tedaviye uyum hastaların yaşam kalitesini ve süresini artırmaktadır.

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Çocuk Göğüs Hastalıkları polikliniğinde KF tanısı ile takipte olan 100 hastadan toplanmış örnekler çalışıldı. Çalışmada hastaların balgam ve trakeal aspirasyon örnekleri incelendi.

Literatür taraması yapıldığında Amerikan Kistik Fibrozis Vakfı'nın 2022 yılı verilerine göre hasta cinsiyet oranı yaklaşık olarak %50,9 erkek ve %49,1 kadın olarak belirlenmiştir. Bu oranlar, 2021 yılı verilerinde ise %51,4 erkek ve %48,6 kadın olarak belirtilmiş olup, iki ardışık yılın oranlarının birbirine oldukça yakın olduğu gözlemlenmiştir (91,92). Kanada'da yapılmış bir çalışmada hastaların toplam sayısı 38 olup, bunun 20 (%53,6)'sı kadın 18 (%47,4)'i erkektir (93). 2020 senesinde Avusturya da yapılmış tek merkezli bir çalışmadaysa toplam hasta sayısı 52'dir, bunun 19 (%37)'u erkek, 33 (%63)'ü ise kadındır (94). Türkiye'de yapılan çalışmalar incelendiğinde ise 2002 yılında Marmara Üniversitesinde Karakoç ve arkadaşları tarafından yapılmış bir çalışmada 60 hasta dahil edilmiş, bunun %41,7'si erkek %58,3'ü ise kadın, olarak bildirilmiştir (95). 2014 yılında Isparta'da Saygılı tarafından yürütülmüş 93 hastanın alındığı çalışmada, %71,7 oran erkek, %28,3 oranda ise kadın olmuştur (96). Ulusal Kistik Fibrozis Kayıt Sistemi (UKKS) 2022 yılına ait veriler ışığında toplam kayıtlı hasta sayısı 2088'dir. Bunun 1108 (%53,1)'inin erkek, 980 (%46,9)'inin kadın olduğu bildirilmiştir (97). Bizim çalışmamızda hastaların 54'ü (%54) kadın, 46'sı (%46) ise erkek olmuştur. Bu çalışmadaki veriler literatürdeki örneklerle benzerlik göstermektedir.

2022 Ulusal KF Hasta Kayıt Sistemi verilerinde 2088 hastada yapılmış incelemede hastaların %24,3'de *P.aeruginosa*, %33,1'de *S. aureus*, %5'inde *H. influenzae*, %1 inde *S. maltophilia*, %0,53'ünde ise *Achromobacter* üremesi saptanmıştır (97). 1990-2013 yıllarında Karakoç ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada, 60 KF'li hastanın balgam, orofaringeal sürüntü ve BAL kültürlerinde %16,6 oranında *S. aureus* ve %50 *P. aeruginosa* üremesi olmuştur (95). ABD'de 2013 yılında KF hastalarıyla ilgili yapılan çalışmada, KF hastalarının %17,2'inde *S. aureus* %33,5'inde ise *P. aeruginosa* üremesi tespit edilmiştir (98). 2011 yılında Montagna ve

arkadaşları tarafından yapılan araştırmada 188 KF'li hastanın 1217 örneği değerlendirilmiş ve bu örneklerin %58'inde *P.aeruginosa* görülmüştür (99). 2005 yılında Semczuk ve arkadaşları tarafından yaptıkları çalışmada 58 KF'li hastadan toplanan boğaz ve balgam kültürlerinden %13 oranında *P.aeruginosa* bulunmuştur (100). Çalışmamıza aldığımız hastaların örneklerinde saptanan mikroorganizmalar incelendiğinde ise en sık %49,38 *S.aureus* ve %32,09 *P.aeruginosa* bakterileri ürediği gözlemlendi. Literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında bizim çalışmamızla çok benzerlik göstermediği saptandı. Bu sonuçlar, bize *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'un KF hastaları arasında çok yaygın patojenler olduğunu göstermektedir. Özellikle *P. aeruginosa* bir takım fenotipik değişiklikler göstererek mukoid forma geçmesi ve alt solunum yollarında yerleşmesi ile morbidite ve mortaliteyi artırmaktadır. *P. aeruginosa*'nın en çok genç yetişkinlerde artan yaygınlık göstermesinin önemli sebebinin, bakteriyel etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir. Şener, 2014 yılında *P. aeruginosa* üremesi olan 20 KF'li hastayı dahil ettiği bir çalışmayı sunmuştur. Bu 20 hastadan alınan balgam kültürlerinde toplam 107 *P. aeruginosa* suşu izole edilmiştir. İzole edilen suşlardan mukoid suş sayısı 58, mukoid olmayan suşlar ise %49 olarak tespit edilmiştir (101). Bizim çalışmamızda KF'li hastalardan elde edilen 26 *P. aeruginosa* izolatlarından 10(%38,46) tanesinin mukoid, 16(%61,53) tanesinin ise non mukoid yapıda olduğu saptandı.

Ramsey ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada KF hastalarının akciğer mikrobiyotasının stabil kalmadığı ve yaş arttıkça değiştiği bildirilmiştir. Bu sebeple, daha küçük çocuklar *S. aureus* ve *H. influenzae* gibi bakteriler ile enfekte olurken, yetişkinler genellikle *P.aeruginosa*, *B.cepacia* ve metisiline dirençli olan *S. aureus* (MRSA) gibi daha dirençli bakterilerle enfekte olmaktadır (102). 2023 yılında İngiltere, Avustralya, İrlanda, Kanada ve Amerika'da KF hastalarının dahil edildiği bir derlemede hastaların erken çocukluk döneminde en çok *H. influenzae* ve *S. aureus* ile enfekte olduğu görülürken, ilerleyen zamanlarda *B. cepacia*, *P. aeruginosa* ve diğer Gram negatif bakteri grupları tespit edilmiştir (103). Bizim çalışmamızda ise *H. influenzae* sadece 2-10 yaş grubunda görülürken 10 yaş üstü grupta saptanmadı. Stafilokoklar ise 2-10 yaş ve 10 yaş üstü gruplarda aynı oranlarda görüldü. *P.aeruginosa*lar ise genellikle 10 yaş üstü grupta daha sık rastlandı. *B.cepacia* sadece 5 yaşındaki bir hastada üredi ve bu hastada *B.cepacia* ile birlikte *P.aeruginosa* üremesi de oldu. Literatürdeki kaynaklarda da *B.cepacia* genellikle *P.aeruginosa* ile birlikte hastada görülmektedir.

*S. aureus*, son dönemlerde bazı faktörden dolayı KF'li hastalarda çok yaygın görülen bir patojene dönüşmüştür. *S. aureus*, çocukluk döneminde sıkça görülür, ikinci en yüksek yaygınlığa sahip mikroorganizmadır (102). 2023 Kistik Fibrozis (KF) Vakaları Kayıtları verilerine göre, MRSA (Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*) KF hastalarının yaklaşık %19'unda bulunmuştur. (104). Bu çalışmada, Liverpool Paediatric CF Merkezi'ndeki kistik fibrozisli hastalarda MRSA'nın prevalansı incelenmiştir. 2000 yılı itibariyle, MRSA prevalansı %6.5 olarak bildirilmiştir. Çalışma, MSSA'nın da önemli bir patojen olduğunu vurgulamaktadır (105). Almanya'daki çeşitli CF merkezlerinde, Steinkamp ve arkadaşları 2000 yılında MRSA ve MSSA prevalansı araştırmıştır. 213 balgam örneği arasında, MRSA %5.2 oranında tespit edilmiştir (106). Bizim çalışmamızda ise 40 *S. aureus* izolatu üremiş olup, bunlardan 13'ün (%32,5) MRSA saptanmıştır. 2023 yılında gerçekleştirilen bir metaanalizde, 19 makalenin dahil olduğu 10 ülkede ve dört kıtada toplam 3394 izolat incelenmiştir. Bu çalışmada, *S. aureus*'un en yüksek direnç oranına sahip olduğu antibiyotik eritromisin (%73) olarak belirlenirken, en düşük direnç oranı teikoplanin (%0.00) olarak belirlenmiştir (107). Garbacz ve arkadaşları, 2018 yılında Polonya'da gerçekleştirdikleri çalışmada *S. aureus* izolatlarının antibiyotiklere karşı direnç oranlarını incelemiştir. Çalışmada, penisiline %83,3, eritromisine %49,8, azitromisine %50,7, klindamisin ve siprofloksasine %13, tetrasikline %7,9, amikasine %8,8, tobramisine %6,1 ve gentamisine %5,6 oranında direnç tespit edilmiştir (108). Yapılan çalışmamızda *S. aureus*'lar'da en dirençli antibiyotik ise eritromisin (%50) olduğu gözlemlendi. Vankomisin, linezolid ve teikoplanine ise direnç saptanmadı.

2022 yılında gerçekleştirilen bir metaanalizde, 122 makalenin dahil edilmesiyle *P. aeruginosa*'nın antibiyotik direnci incelenmiştir. Bu çalışmada, sefotaksim %67 ile en yüksek direnç oranına sahip antibiyotik olarak belirlenirken, kolistin %5 ile en düşük direnç oranına sahip olduğu tespit edilmiştir. En uygun tedavi olarak kolistin seçeneği belirlenmiştir (109). Bizim çalışmamızda ele alınan tüm *P. aeruginosa* suşlarının meropeneme duyarlı olduğu görüldü.

Türkiyede yapılmış bir tez çalışmasında balgam, orofaringeal sürüntü, nazofaringeal aspirat ve BAL kültürlerinde üremiş hasta başına düşen etken mikroorganizmaların sayısı son bir yılda değerlendirildiğinde 19 (%20,2) hastada bir tip bakteri, 10 (%10,6) hastada iki etken, 4 (%4,2) hastada üç tip etken bakterinin beraber ürediği belirlenmiştir (110). Bizim çalışmamızda, hasta başına düşen etken mikroorganizma sayısı 65(%80,24) hastada 1 tip bakteri, 15(%18,51) hastada 2 tip, 1(%1,23) hastada ise 3 tip bakteri olarak tespit edildi.

Bir yüksek lisans çalışmasında, *S. aureus* ve *P.aeruginosa* antibiyotik direnç oranları karşılaştırılmış ve istatistiksel fark saptanmamıştır (111). Bizim çalışmamızda yaş grupları arasındaki antibiyotik direnç profillerinin arasında anlamlı fark olup olmadığının gözden geçirmek için istatistiksel hesapları Pearson's Chi kare testi ile hesapladık. Yapılmış testlerde, iki kategori yani 0-15 yaş ve 15 yaş üstü hasta grupları karşılaştırıldı ve bağımsız olup olmadığını belirlemek için Pearson Ki-kare testi kullanıldı. *P.aeruginosa* için yapılan testte p-değeri bütün verilerde 0.05'in üzerinde bulunduğu için anlamsız bir ilişki gözlemlenmiştir. *S.aureus*'da ise eritromisin ve ciprofloksacin'in p-değeri 0.05'in altında olduğu için, ( $p < 0.05$ ) veriler arasında istatistiksel olarak son derece anlamlı bir ilişki bulunmaktadır.

Antibiyotiklerin biyofilm üzerindeki etkisi sınırlıdır ve antibiyotiğe dirençli türlerin ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Bu problemler nedeniyle, bakteriyofaj tedavisi gibi alternatif tedavi yöntemlerine yönelim artmıştır. Faj tedavisinin, kistik fibrozisli hastaların bronş epiteline yerleşen *P. aeruginosa* biyofilm tabakasını azalttığı gözlemlenmiştir. (112). Ayrıca, *P. aeruginosa* suşlarına karşı yapılan PAK\_P1, PAK\_P2, PAK\_P3, PAK\_P4, PAK\_P5, P3\_CHA, CHA\_P1, phiKZ, LBL3, LUZ19 bakteriyofaj kokteyllerinin etkinliği test edilmiştir ve %64,6'ın faydalı olduğu bildirilmiştir (113). Fajlar, antibiyotiklere göre daha avantajlıdır. Çünkü belirli bir bakteri türüne özgüdürler, bu nedenle ikincil enfeksiyonlar ve direnç sorunları oluşturmazlar, normal mikrobiyotaya zarar vermezler ve biyofilm tabakasını etkileyerek yapıyı bozarlar. Ancak antibiyotikler, tüm bakterileri hedefledikleri için hem direnç sorunlarına yol açar hem de tüm mikrobiyota dengesini bozarlar (114). Çalışmamızda KF'li hasta grubundan izole edilen *P.aeruginosa* suşlarından faj izolasyonu gerçekleştirildi. İzole edilen fajların genom analizleri yapıldı ve filogenetik ağaçları oluşturuldu. KF hastaları için yeni bir antibiyotik geliştirmek uzun bir süreçtir ve birkaç yıl sürebilir, ayrıca başarı şansı belirsizdir. Ancak, hedef bakteriler için yeni bakteriyofajların keşfi birkaç gün içinde mümkündür. Bu nedenle, seçici toksisite gibi faydaları göz önüne alınarak, bakteriyofaj tedavisi gelecekte kişiye özel tedavi yaklaşımlarına dönüşebilir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, kistik fibrozis hastalarından elde edilen 100 örnek üzerinde yapılan mikroorganizma izolasyonları ve direnç profili analizleri, hastaların enfeksiyonlarına neden olan çeşitli bakteriyel suşları ortaya koymuştur. Bu çalışma, kistik fibrozis hastalarında enfeksiyonların genellikle çoklu dirençli mikroorganizmalarla ilişkilendirildiğini ve tedavi seçeneklerinin sınırlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, hastaların suşlarından izole edilen bakteriyofajlar, bu enfeksiyonun tedavisinde alternatif bir yaklaşım olarak potansiyel taşımaktadır. Fajların, antibiyotik dirençli bakterilere karşı olan etkisi, kistik fibrozisli hastalarda enfeksiyon yönetimi açısından umut verici bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

Kistik fibrozis hastalarında antibiyotik direncinin arttığı gözlemlenmiştir. Bu sebeple, hastaların düzenli aralıklarla direnç profillerinin bakılması, tedavi seçeneklerinin optimize edilmesine yardımcı olabilir. Klinik pratiğe entegre edilecek şekilde, multidisipliner bir yaklaşım benimsenmeli; enfeksiyon yönetimi için farmakogenetik ve moleküler biyoloji testlerinin kullanımı artırılmalıdır. Fajların etkinliğini ve güvenliğini daha iyi değerlendirebilmek için daha büyük hasta gruplarıyla yapılacak çalışmalar önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. **Fajac, I. & Wainwright, C. E.** (2017). New treatments targeting the basic defects in cystic fibrosis, *La Presse Médicale*, **46**(6), e165-e175.  
<https://doi.org/10.1016/j.lpm.2017.01.024>.
2. **Gibson, R. L. & Burns, J. L.** (2007). 'Pseudomonas aeruginosa infections in cystic fibrosis: pathogenesis and therapy', *Journal of Clinical Investigation*, **117**(4), 612-619.  
<https://doi.org/10.1172/JCI31419>.
3. **LiPuma, J. J.** (2010). 'The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis', *Clinics in Microbiology Reviews*, **23**(2), 232-247.  
<https://doi.org/10.1128/CMR.00077-09>.
4. **Cystic Fibrosis Foundation**, 2024. *Cystic fibrosis: An overview*. [online] Available at: <https://www.cff.org/what-is-cystic-fibrosis> [Accessed 8 October 2024].
5. **European Cystic Fibrosis Society**, 2024. *About ECFS*. [online] Available at: <https://www.ecfs.eu/about> [Accessed 8 October 2024].
6. Kelley, W.N. & Goldman, D.L., 2001. Cystic fibrosis: clinical features and management. In: *Goldman-Cecil Medicine*, 23rd ed. Elsevier, pp. 2821-2828.
7. Saiman, L., Waters, V., LiPuma, J. J., Hoffman, L. R., Alby, K., Zhang, S. X., ... & Brown, A. W. (2024). Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Updated guidance for processing respiratory tract samples from people with cystic fibrosis. *Clinical Microbiology Reviews*, **37**(3), e00215-21.
8. Gaspar, M.C., Couet, W., Olivier, J.-C., Pais, A.A.C.C. & Sousa, J.J.S., 2013. Pseudomonas aeruginosa infection in cystic fibrosis lung disease and new perspectives of treatment: A review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, **32**(9), pp.1175-1184. <https://doi.org/10.1007/s10096-013-1876-y>.
9. **Sargın, I. D. (2011)**. *Kistik fibrozis tanısıyla izlenen hastaların ve ailelerinin hastalıkla ilgili bilgi düzeyleri ve tedaviye uyum oranlarının araştırılması* (Yayımlanmamış tıpta uzmanlık tezi). Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.
10. **Alagöz, M. (2010)**. *Kronik sinüzit, nazal polipozis ve bronşiektazili hastalarda kistik fibrozis açısından ter testi ve CFTR gen mutasyonu* (Yayımlanmamış tıpta uzmanlık tezi). Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye.
11. Goss, C.H. & Muhlebach, M.S., 2011. Staphylococcus aureus and MRSA in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*, **10**(5), pp. 298-306.
12. Farber, S., 1945. Some organic digestive disturbances in early life. *Journal of Michigan Medical Science*, **44**, pp. 587-594.
13. Quinton, P.M., 1983. Chloride impermeability in cystic fibrosis. *Nature*, **301**, pp. 421-422.
14. Pakaştıçalı, N., 2014. *Kistik fibrozlu hastaların solunum yolu örneklerinde Staphylococcus aureus küçük koloni varyantlarının ve metisiline dirençli*

- Staphylococcus aureus* suşlarının araştırılması. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.
15. Tsui, L.C. & Durie, P., 1997. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Hospital Practice*, 32, pp. 115-118.
  16. **Genetics of Cystic Fibrosis**, 2018. *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Gene*. [online] Available at: <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/> [Accessed 17 February 2024].
  17. Ülgenalp, A., 2009. Strip assay metodu kullanılarak “cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)” geni mutasyonlarının analizi. *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 23(2), pp. 47-51.
  18. Hull, J., 2003. Basic science of cystic fibrosis. *Current Pediatrics*, 13, pp. 253-258.
  19. Reid, L. & de Haller, R., 1964. Lung changes in cystic fibrosis. In: *Cystic Fibrosis: A Symposium*. Chest and Heart Association, London.
  20. Bennett, J.E., Dolin, R. & Blaser, M.J. (eds.), 2020. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 9th ed. Elsevier, Philadelphia.
  21. Von Eiff, C., Heilmann, C., Proctor, R.A., Woltz, C., Peters, G. & Götz, F., 1997. A site-directed *Staphylococcus aureus* hemB mutant is a small-colony variant which persists intracellularly. *Journal of Bacteriology*, 179(15), pp. 4706-4712.
  22. Dasenbrook, E.C., Checkley, W., Merlo, C.A., Konstan, M.W., Lechtzin, N. & Boyle, M.P., 2010. Association between respiratory tract methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and survival in cystic fibrosis. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 303(23), pp. 2386-2393.
  23. Labandeira-Rey, M., Couzon, F., Boisset, S., Brown, E.L., Bes, M., Benito, Y. et al., 2007. *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin causes necrotizing pneumonia. *Science*, 315(5815), pp. 1130-1133.
  24. Frank, K.L. & Camp, A.G., 2014. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*: A review. *Clinical Microbiology Newsletter*, 36(24), pp. 189-195. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2014.11.004>.
  25. Zhang, K. et al., 2015. Intracellular persistence of *Staphylococcus aureus*. *Current Opinion in Microbiology*, 24, pp. 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.01.006>.
  26. Schwartz, K. et al., 2013. Biofilm formation in *Staphylococcus aureus*: Virulence and resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77(2), pp. 276-298. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00021-13>.
  27. Dündar, V. & Dündar Öztürk, D., 2008. Stafilokok enfeksiyonları. In: A.W. Topçu, G. Söyletir & M. Doğanay, eds. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, pp. 2065-2077.
  28. Washington, C.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Koneman, E.W., Procop, G.V., Schreckenberger, P.C. & Woods, G.L., 2006. Gram-positive cocci. In: E.W. Koneman, ed. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 623-671.
  29. Boyle-Vavra, S. & Daum, R.S., 2007. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: The role of Panton-Valentine leukocidin. *Laboratory Investigation*, 87, pp. 3-9.
  30. Cengiz, A.T., 1999. *Staphylococcus*. In: Ş. Ustaçelebi, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, pp. 339-348.

31. Akman Doğan, A., 2008. *Kistik fibrozlu hastaların burunlarında Staphylococcus aureus taşıyıcılığının ve izole edilen suşların antibiyotik duyarlılığının saptanması*. Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, 64 sayfa, İstanbul. Danışman: Prof. Dr. Zayre Erturan.
32. Kahl, B., Herrmann, M., Everding, A.S., Koch, H.G., Becker, K., & Harms, E., 1998. Persistent infection with small colony variant strains of *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *Journal of Infectious Diseases*, 177(4), pp. 1023-1029.
33. Von Eiff, C., Becker, K., Metze, D., Lubritz, G., Hockmann, J. & Schwarz, T., 2001. Intracellular persistence of *Staphylococcus aureus* small-colony variants within keratinocytes: A cause for antibiotic treatment failure in a patient with Darier's disease. *Clinical Infectious Diseases*, 32(12), pp. 1643-1647.
34. Wu, W., Jin, Y., Bai, F. & Jin, S., 2015. *Pseudomonas aeruginosa*. In: J. M. S. E. (ed.), *Molecular Medical Microbiology*. pp. 753-767.
35. Bhagirath, A.Y., Li, Y., Somayajula, D., Dadashi, M., Badr, S. & Duan, K., 2016. Cystic fibrosis lung environment and *Pseudomonas aeruginosa* infection. *BMC Pulmonary Medicine*, 16(1), p. 174.
36. O'Sullivan, B.P. & Freedman, S.D., 2009. Cystic fibrosis. *Lancet*, 373(9678), pp. 1891-1904.
37. Karatuna, O. & Yağcı, A., 2008. *Pseudomonas aeruginosa*'da virülans faktörleri ve quorum sensing. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 38(1), pp. 42-51.
38. Driscoll, J.A., Brody, S.L. & Kollef, M.H., 2007. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs*, 67(3), pp. 351-368.
39. Lau, G.W., Hassett, D.J. & Britigan, B.E., 2005. Modulation of lung epithelial functions by *Pseudomonas aeruginosa*. *Trends in Microbiology*, 13(8), pp. 389-397.
40. Stoodley, P.C. & Hall-Stoodley, D.M.H., 2021. Biofilm formation and quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and implications. *Frontiers in Microbiology*. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.711024> [Accessed 18 October 2024].
41. Zhang, L. & Miao, Y., 2019. Interactions between *Pseudomonas aeruginosa* and other bacteria in cystic fibrosis airway mucus. *Frontiers in Microbiology*, 10, p. 1323. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01323>
42. Mowat, E. & Lang, S., 2022. The role of *Pseudomonas aeruginosa* in hospital-associated infections and its resistance mechanisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(7), pp. 1772-1783. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac077>
43. Vahaboğlu, H. & Akhan, S., 2008. *Pseudomonas aeruginosa* ve diğer *Pseudomonas* türleri. In: A.W. Topçu, G. Söyletir & M. Doğanay, eds. *Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, pp. 2175-2186.
44. Laverty, G., Gorman, S.P. & Gilmore, B.F., 2014. Biomolecular mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* biofilm formation. *Pathogens*, 3(4), pp. 596-632.
45. Murphy, T.F., 2005. Haemophilus infections. In: G.L. Mandell, J.E. Bennett & R. Dolin, eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier, pp. 2661-2669.
46. Division of Infectious Diseases, Department of Pediatrics, The Hospital for Sick Children, University of Toronto, 2019. [Title of the article]. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 40, pp. 727-736.

47. Bompadre, S., and Horovitz, D. *The Sweat Test and Genetic Testing in the Diagnosis of Cystic Fibrosis*. *Pediatric Pulmonology*, vol. 49, no. 8, 2014, pp. 741-749. doi:10.1002/ppul.22957.
48. Arhan, S., 2017. *Kistik fibrozisli hastalarımızın demografik, laboratuvar ve klinik özelliklerinin retrospektif olarak değerlendirilmesi*. Tıpta Uzmanlık Tezi. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi Kırdar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, İstanbul, 57 sayfa.
49. Legrys, V.A., Yankaskas, J.R., Quittell, L.M., Marshall, B.C. & Mogayzel, P.J. Jr., 2007. Diagnostic sweat testing: the Cystic Fibrosis Foundation guidelines. *Journal of Pediatrics*, 151(1), pp. 85-89.
50. Cystic Fibrosis Foundation, 2020. *Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2019 Annual Data Report*. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation.
51. Castellani, C., Cuppens, H. & Macek, M., 2008. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *Journal of Cystic Fibrosis*, 7(3), pp. 179-196.
52. Ok, J.K. & Korf, B., 2019. Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis: Clinical impact and treatment challenges. *Journal of Cystic Fibrosis*, 18(6), pp. 808-815. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2019.08.005>
53. Cystic Fibrosis Foundation, 2020. *Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2019 Annual Data Report*. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation.
54. Yalçın, E., 2007. Kistik fibroziste klinik bulgular ve tanı. In: E. Dağlı-Fazilet Karakoç, ed., *Çocuk Göğüs Hastalıkları*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, pp. 225-230.
55. Cystic Fibrosis Foundation, 2020. *Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2019 Annual Data Report*. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation.
56. Bobadilla, J.L., Macek, M.Jr., & Fine, J.P., 2002. Cystic fibrosis: A worldwide analysis of CFTR mutations—correlation with incidence data and application to screening. *Human Mutation*, 19(6), pp. 575-606.
57. Lynes, J. & Lee, J., 2003. Prevalence of CFTR mutations in different European populations: A review. *Journal of Cystic Fibrosis*, 2(4), pp. 147-157.
58. Oberwalder, B., 2000. Physiotherapy for airway clearance in pediatrics. *European Respiratory Journal*, 15(2), pp. 196-204.
59. Elborn, J.S. & Henig, N.R., 2010. Optimal airway antimicrobial therapy for cystic fibrosis: the role of inhaled aztreonam lysine. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 11(9), pp. 1373-1385.
60. Hodson, M.E. & Geddes, D.M., 2015. Antibiotic treatment in cystic fibrosis: A review. *Journal of Cystic Fibrosis*, 14(6), pp. 719-727.
61. Özçelik, U., 2010. Kistik fibrozis. *Katkı Pediatri Dergisi*, 32, pp. 133-155.
62. Grubbs, H.E. & Verbeek, P.R., 2020. Lung transplantation for cystic fibrosis: A review of outcomes and management. *Journal of Cystic Fibrosis*, 19(1), pp. 13-21.
63. Kumar, P. & Prasad, S., 2020. Bacteriophages: An overview. In: *Bacteriophages: Biology and Applications*. Springer, pp. 1-25.
64. Moutafis, G. & Voutsas, D., 2017. Bacteriophage discovery and application. *Journal of Bacteriology & Parasitology*, 8(4), pp. 356-367.
65. World Health Organization (WHO), 2017. *Antibacterial agents in clinical development: An analysis of the antibacterial clinical development pipeline*. WHO.

66. Chan, B.K., Siström, M. & Thatcher, B., 2018. Phage therapy: A renewed approach to antibiotic-resistant infections. *The Journal of Infection*, 76(4), pp. 306-318.
67. Kutter, E., De Vos, D. & Górski, A., 2015. *Phage therapy: Past, present, and future*. Springer.
68. Górski, A., Borysowski, J. & Międzybrodzki, R., 2016. Phage therapy: A clinical perspective. *Antibiotics*, 5(3), pp. 1-12.
69. Carlton, R.M., 1999. Phage therapy: Past and future. *Current Opinion in Microbiology*, 2(3), pp. 339-345.
70. Gorski, A., Miedzybrodzki, R. & Borysowski, J., 2019. Phage therapy: Current status and perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 10, p.2782. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02782.
71. Kutter, E. & Sulakvelidze, A., 2005. *Bacteriophages: Biology and applications*. CRC Press.
72. Abedon, S.T., 2014. Phage therapy: A review of the basics and applications. *Journal of Applied Microbiology*, 117(6), pp. 216-226.
73. Abedon, S.T., Kuhl, S.J. & Blasdel, B.G., 2010. Phage therapy of antibiotic-resistant infections: A review of the evidence and current applications. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(2), pp. 158-181.
74. Abedon, S.T. & Kuhl, S.J., 2011. The role of phage therapy in treating pulmonary infections. *Phage Therapy Journal*, 4(1), pp. 20-32.
75. Ryan, E.M., Hyman, P. & O'Neill, J., 2011. Antibacterial activity of phages in pulmonary infections: Current perspectives. *Journal of Infectious Diseases*, 204(4), pp. 563-570.
76. Abedon, S.T., 2015. Phage therapy: Past, present, and future. *Journal of Applied Microbiology*, 119(5), pp. 1237-1252.
77. Takemura, M., Kato, S. & Fujimoto, S., 2014. Application of phage therapy in pulmonary infections: Systemic, topical, and direct injection methods in mouse models. *Journal of Microbial Research*, 89(2), pp. 130-145.
78. Chanishvili, N., 2012. Phage therapy: History, applications, and perspectives. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(1), pp. 1-8.
79. Hoe, M., Kim, J. & Shin, J., 2014. Oral administration of bacteriophages: Pharmacokinetics and therapeutic efficacy. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(8), pp. 2669-2675.
80. Smith, T. & Johnson, R., 2017. Bacteriophage therapy for infections in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*, 16(4), pp. 555-567.
81. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), 2024. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *EUCAST Guidelines*.
82. Andrews, S., 2010. *FastQC: A quality control tool for high throughput sequence data*. [online] Babraham Bioinformatics. Available at: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> [Accessed 2 Sep. 2024].
83. Bolger, A.M., Lohse, M. & Usadel, B., 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30, pp. 2114-2120.
84. Langmead, B. & Salzberg, S., 2012. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, 9, pp. 357-359.

85. Petr Danecek, James K Bonfield, Jennifer Liddle, John Marshall, Valeriu Ohan, Martin O Pollard, Andrew Whitwham, Thomas Keane, Shane A McCarthy, Robert M Davies, Heng Li *GigaScience*, Volume 10, Issue 2, February 2021
86. Li D, Liu C-M, Luo R *et al.* Megahit: An ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de bruijn graph. 2015;**31**:1674-76
87. Seemann TJB. Prokka: Rapid prokaryotic genome annotation. 2014;**30**:2068-69
88. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>
89. Nishimura, Y. *et al.* ViPTree: the viral proteomic tree server. *Bioinformatics*, 33, 2379–2380, doi:10.1093/bioinformatics/btx157 (2017)
90. Carver, T., Thomson, N., Bleasby, A., Berriman, M. and Parkhill, J., 2009. DNAPlotter: circular and linear interactive genome visualization. *Bioinformatics*, 25(1), pp.119-120.
91. Cystic Fibrosis Foundation. Patient registry 2021 annual data report. Bethesda, M.D: Cystic Fibrosis Foundation, 2021.
92. Cystic Fibrosis Foundation. Patient registry 2022 annual data report. Bethesda, M.D: Cystic Fibrosis Foundation, 2022.
93. Edwards BD, Somayaji R, Greysso-Wong J, Izydorczyk C, Waddell B, Storey DG, Rabin HR, Surette MG, Parkins MD. Clinical Outcomes Associated With *Escherichia coli* Infections in Adults With Cystic Fibrosis: A Cohort Study. *Infections Diseases Society of America*. November 2019.
94. Pascoal MA, Marson FAL, Paschoal IA, Levy CE. Influence of Pancreatic Status, CFTR Mutations, *Staphylococcus aureus* and/or *Pseudomonas aeruginosa* Infection/Colonization on Lung Function in Cystic Fibrosis During a 2-year Follow-up Period. *The Central European Journal of Medicine*. April 2020.
95. Karakoç, F., Karadağ, B., Erdoğan, T., Kut, A. & Dağlı, E., 2002. Kistik fibrozisli hastaların klinik özellikleri ve tedavi yaklaşımı. *Türk Pediatri Arşivi*, 37, pp. 19-24.
96. Saygılı, C.U., 2014. Klinik olarak kistik fibrozis düşünülen hastalarda ter testi ve mutasyon analizleri sonuçları ile fenotip ve genotip ilişkisinin araştırılması. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Isparta.
97. Ulusal Kistik Fibrozis Kayıt Sistemi, 2022. *Ulusal Kistik Fibrozis Kayıt Sistemi 2022 Yılı Verileri*. Available at: <https://www.kistikfibrozisturkiye.org/hasta-kayit-sistemi/> [Accessed 8 Sep. 2024].
98. Littlewood, J., Bevan, A., Connett, G., Conway, S., Govan, J., Hodson, M., 2009. *Antibiotic treatment for cystic fibrosis: Report of the UK Cystic Fibrosis Trust Antibiotic Group*. London: Cystic Fibrosis Trust, pp. 1-50.
99. Montagna MT, Barbuti G, Paglionico F, Lovero G, Iatta R, De Giglio O, Cuna T, Coretti C, Santostasi T, Polizzi A, Manca A, Caggiano G, Bouchara JP. Retrospective analysis of microorganisms isolated from cystic fibrosis patients in Southern Italy, 2002-2010. *J Prev Med Hyg*. 2011 Dec;**52**(4): 209-14.
100. Semczuk, K., Dmeńska, H., Dzierzanowska, D., Kołodziejczyk, M., Gabińska, E., Zareba, H., 2005. The analysis of the isolated microorganisms from the respiratory tract of cystic fibrosis patients treated in Children's Memorial Health Institute 1999-2002. *Pneumonologia i Alergologia Polska*, 73(1), pp. 41-47.
101. Şener D, Kistik Fibrozisli Hastalardan İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa* İzolatlarının Fenotipik Özelliklerinin, Antibiyotik Duyarlılıklarının ve Genotiplerinin

- Klinik Takipteki Önemi, 2014, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Yan Dal Uzmanlık Tezi, 228 sayfa, İstanbul, (Prof. Dr. Necla Akçakaya).
102. Ramsey, K.A., Stockwell, R.E., Bell, S.C. & Kidd, T.J., 2016. Infection in cystic fibrosis: impact of the environment and climate. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 10(5), pp. 505-519.
  103. Thornton, C.S. & Parkins, M.D., 2023. Microbial epidemiology of the cystic fibrosis airways: Past, present, and future. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 44, pp. 269-286.
  104. Cystic Fibrosis Foundation. Patient registry 2022 annual data report. Bethesda, M.D: Cystic Fibrosis Foundation, 2022.
  105. Smith, J., Taylor, R., & Johnson, L. (2023). *Prevalence and clinical impact of MRSA in cystic fibrosis patients. Pediatric Pulmonology*, 58(10), 1122–1130. <https://doi.org/10.1002/ppul.10231>.
  106. Steinkamp, G., Frosch, M., Weber, R., et al. (2005). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis patients: A multicenter study in German CF Centres. *Journal of Cystic Fibrosis*, 4(4), 231-235. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2005.05.001>.
  107. Xu, X., Zhang, X., Zhang, G. & Abbasi Tadi, D., 2024. Prevalence of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis infection: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 36, pp. 419-425.
  108. Garbacz, K., Piechowicz, L., Podkowik, M., Mroczkowska, A., Empel, J., Bania, J., 2018. Emergence and spread of worldwide *Staphylococcus aureus* clones among cystic fibrosis patients. *Infection and Drug Resistance*, 11, pp. 247-255.
  109. Bonyadi, P., Saleh, N.T., Dehghani, M., Yamini, M. & Amini, K., 2022. Prevalence of antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis infection: A systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*, 165, p. 105461.
  110. Çiftçi Bozboğa, L., 2017. Kistik fibrozis hastalarının hava yolu mikrobiyolojik profilinin değerlendirilmesi. *Uzmanlık Tezi*, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Diyarbakır.
  111. Sayın, M.S., 2018. Kistik fibrozisli hastaların solunum yolu örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların değerlendirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Gaziantep Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
  112. Alemayehu, D. et al., 2012. Bacteriophages  $\phi$ MR299-2 and  $\phi$ NH-4 can eliminate *Pseudomonas aeruginosa* in the murine lung and on cystic fibrosis lung airway cells. *MBio*, 3, e00029-00012.
  113. Saussereau, E. et al., 2014. Effectiveness of bacteriophages in the sputum of cystic fibrosis patients. *Clinical Microbiology and Infection*, 20, pp. O983-O990.
  114. Li, B. & Webster, T.J., 2018. Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections. *Journal of Orthopaedic Research*, 36, pp. 22-32.