

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KİSTİK FİBROZİSLİ HASTALARDAN İZOLE EDİLEN
PSEUDOMONAS AERUGINOSA İZOLATLARININ FENOTİPİK
ÖZELLİKLERİNİN, ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ VE
GENOTİPLERİNİN KLİNİK TAKİPTEKİ ÖNEMİ**

Dr. Dicle ŞENER

(Tez Danışmanı Prof. Dr. Necla AKÇAKAYA)

(YAN DAL UZMANLIK TEZİ)

İstanbul-2014

Bu tez İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Fonu tarafından desteklenmiştir.

(BAP Proje No: 29295)

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KİSTİK FİBROZİSLİ HASTALARDAN İZOLE EDİLEN
PSEUDOMONAS AERUGINOSA İZOLATLARININ FENOTİPİK
ÖZELLİKLERİNİN, ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ VE
GENOTİPLERİNİN KLİNİK TAKİPTEKİ ÖNEMİ**

Dr. Dicle ŞENER
(Tez Danışmanı Prof. Dr. Necla AKÇAKAYA)
(YAN DAL UZMANLIK TEZİ)

İstanbul-2014

Bu tez İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Fonu tarafından desteklenmiştir.

(BAP Proje No: 29295)

‘Kistik fibrozisli hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının fenotipik özelliklerinin, antibiyotik duyarlılıklarının ve genotiplerinin klinik takipteki önemi’ isimli çalışmamı destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Fonu’ na teşekkür ederim.

ÖNSÖZ

Yan dal uzmanlık eğitimim boyunca akademik bir çalışma ortamı sunan İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Salim ÇALIŞKAN başta olmak üzere, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm saygıdeğer öğretim üyelerine,

Yan dal eğitimim boyunca meslek etiği ve pratiğine dair kendisinden çok şey öğrendiğim, tez hazırlama sürecinde her zaman yanımda olan, emeğini ve zamanını esirgemeyen, bilgi, görüş ve deneyimleri ile bana ışık tutan, hayatımda mesleki ve insani değerler adına büyük iz bırakan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Necla AKÇAKAYA'ya,

Bilim insanı olarak örnek alacağım, insana verdiği değerlerle her zaman hatırlayacağım Sayın Yıldız CAMCIOĞLU'na,

Kendisiyle çalışma fırsatı bulmaktan onur duyduğum, bilgi ve deneyimini örnek almaya çalıştığım Sayın Prof. Dr. Haluk ÇOKUĞRAŞ'a,

Laboratuvar çalışmalarım süresince tecrübelerini ve yardımlarını benden esirgemeyen, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Zayre ERTURAN'a,

Bilgi ve tecrübeleri ile bana yön veren, yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, tezimin laboratuvar aşamasında yanımda olan, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Zerrin AKTAŞ'a,

Suşların band profillerinin GelCompar II yazılım sistemi (version 6.0; Applied Maths) kullanılarak analizinde emek veren, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Kaya KÖKSALAN'a,

Laboratuvarıda birlikte çalıştığım, hastalarımın laboratuvar örneklerinin alınmasından suşların analizine kadar her aşamada bana yardımcı olan, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı asistanı Sayın Dr Caner YÜRÜYEN'e,

Birlikte çalışmaktan onur duyduğum, desteklerini esirgemeyen tüm uzman ve asistan doktor arkadaşlarıma,

Birlikte çalışmaktan zevk aldığım ve tanımaktan büyük mutluluk duyduğum tüm hemşire ve sağlık personeli arkadaşlarıma,

Yetişmemde büyük emekleri olan, hayatım boyunca iyi ve kötü günümde hep yanımda olan, desteklerini esirgemeyen değerli aileme,

en içten duygularıyla teşekkür eder, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Dr Dicle ŞENER

İÇİNDEKİLER

ÖZET

SUMMARY

1. GİRİŞ VE AMAÇ	18
2.1. TANIM VE TARİHÇE	21
2.2. EPİDEMİYOLOJİ VE GENETİK	22
2.3. FİZYOPATOLOJİ	26
2.3.1. Kistik Fibrozis Transmembran Regülatör (KFTR) Proteini	26
2.3.2. Ter Bezi Fizyopatolojisi	28
2.3.3. Solunum Yolu Epiteli Fizyopatolojisi	29
2.3.4. Pankreas Fizyopatolojisi	32
2.3.5. Diğer Egzokrin Bezlerin Fizyopatolojisi	32
2.4. KLİNİK BULGULAR	33
2.4.1. Akciğer Tutulumu	34
2.4.2. Üst Solunum Yollarının Tutulumu	38
2.4.3. Pankreas Tutulumu	38
2.4.4. Hepatobiliyer Tutulum	39

2.4.5. İntestinal Tutulum	40
2.4.6. Sıvı-elektrolit Bozukluğu	40
2.4.7. Genitoüriner Sistem Tutulumu	41
2.4.8. Kas-iskelet Sistemi Tutulumu	41
2.5. TANI	42
2.5.1. Ter Testi	43
2.5.2. Nazal Potansiyel Farkı Ölçümü	44
2.5.3. Mutasyon Analizi	45
2.5.4. Yenidoğan Taramaları	46
2.5.5. Pankreas Fonksiyon Testleri	46
2.5.6. Prenatal Tanı	47
2.5.7. Mikrobiyolojik Testler	47
2.5.8. Görüntüleme Yöntemleri	47
2.5.9. Solunum Fonksiyon Testi	48
2.5.10. Üreme Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi	49
2.6. TEDAVİ	49
2.6.1. Antibiyotik	50
2.6.1.1. Akciğer Alevlenmesinde Tedavi	50
2.6.1.2. Akciğer Enfeksiyonunun Önlenmesi	51

2.6.2. Solunum Yolu Temizliği	52
2.6.3. Bronkodilatatör	53
2.6.4. Antiinflamatuvar	54
2.6.5. Beslenme Desteği	54
2.6.5.1. Pankreatik Enzim Desteği	55
2.6.5.2. Vitamin Desteği	55
2.6.6. Akciğer Transplantasyonu	56
2.7. PROGNOZ	57
2.8. KİSTİK FİBROZİS VE <i>P.AERUGINOSA</i>	57
2.8.1. <i>P.aeruginosa</i>	57
2.8.1.1 Tanım	57
2.8.1.2 Virulans Faktörleri	58
2.8.1.3. Genetik Özellikleri	60
2.8.1.3.1 Genom Yapısı	60
2.8.1.3.2 Tip 3 Sekresyon Sistemi	61
2.8.1.3.3 ‘PKLC102-benzer’ Genom Adası	62
2.8.1.4 Direnç	63
2.8.1.4.1 Temel Özellikler	63
2.8.1.4.2 Genişletilmiş-spektrumlu β -laktamaz (GSBL)	64

2.8.1.4.3 Karbapenem Direnci	64
2.8.1.4.4 Florokinolon Direnci	65
2.8.2 Kistik Fibrozis ve <i>P.aeruginosa</i> Kolonizasyonu	66
2.8.2.1 Bulaşıcılık	69
2.8.2.2 Moleküler Çalışmalar	71
2.8.2.2.1 PFGE ('pulsed field gel electrophoresis' - darbeli alan jel elektroforezi)	71
2.8.2.2.2 Kistik Fibrozis Hastalarından İzole Edilen <i>P.aeruginosa</i> Suşlarının PFGE Yöntemi ile Moleküler Tiplendirilmesi	72
2.8.2.3 KFTR Mutasyonu ve <i>P.aeruginosa</i> Genotipi	74
2.8.2.4 Kistik Fibroziste <i>P.aeruginosa</i> Kolonizasyonu ve Bağışıklık Sistemi	74
2.8.3 Moleküler Çalışmaların Epidemiyolojik Katkıları	75
3. GEREÇ VE YÖNTEM	76
3.1. Gereç	76
3.2. Yöntem	76
3.2.1 Verilerin toplanması	76
3.2.2 Mikrobiyolojik Testler ve Dendogramların Değerlendirilmesi	77
3.2.2.1 Solunum yolu örneklerinin kültürlerinin yapılması, üreyen suşların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi	77
3.2.2.2 <i>P.aeruginosa</i> suşlarının PFGE ile genotiplendirilmesi	77

4. BULGULAR	82
5. TARTIŞMA	140
6. SONUÇ	162
7. KAYNAKLAR	168
8. EKLER	210

KISALTMALAR

A₁AT: Alfa 1 antitripsin

ABPA: Allerjik bronkopulmoner aspergilloz

AES III: Avustralya Epidemik Suş III

ATP: Adenozin trifosfat

cAMP: Siklik adenozin monofosfat

CFF: Cystic Fibrosis Foundation (Kistik Fibroz Kurumu)

D: Dirençli

DİOS: Distal intestinal obstrüksiyon sendromu

DNA: Deoksiribonükleik asit

FDA: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç Dairesi)

FEF 25-75: Forced expiratory flow % 25-75 (Zorlu ekspiryum ortası akım hızı)

FEV 1: Forced expiratory volume in 1 second (Birinci saniye zorlu ekspiryum volümü)

FVC: Forced vital capacity (Zorlu vital kapasite)

H: Hassas

HPO: Hipertrofik pulmoner osteoartropati

KBVDY: Konjenital bilateral vas deferens yokluğu

KFİD: Kistik fibrozis ilişkili diyabet

KFTR: Kistik fibrozis transmembran regölatör

LES: Liverpool epidemik suşu

M: Mukoid

MBL2: Manno2 bağlayıcı lektin 2

MMR: Mismatch repair system (Uyuşmazlık onarım sistemi)

mRNA: Messenger (Haberci) ribonökleik asit

N: Mukoid Olmayan

P.aeruginosa: Pseudomonas aeruginosa

PAMPs: Pathogen-associated molecular patterns (Patojen ilişkili moleküler örüntüler)

PFGE: Pulsed-Field Gel Electrophoresis (Darbeli Alan Jel Elektroforezi)

Pg: Pigment

PRR: Pattern recognition receptors (Örüntü tanıma reseptörleri)

SFT: Solunum fonksiyon testi

TGFB1: Transforming growth factor beta 1 (Dönüştürücü büyüme faktörü beta 1)

T3SS: Tip 3 Sekresyon Sistemi

T6SS: Tip 6 Sekresyon Sistemi

VKİ: Vücut kitle indeksi

ÖZET

Kistik fibrozis (KF) beyaz ırkta en sık görülen, ölümcül, otozomal resesif geçişli hastalıktır. KF’de morbidite ve mortalitenin en önemli nedeni tekrarlayan akciğer infeksiyonlarına bağlı gelişen solunum yetersizliğidir. Akciğer infeksiyonuna neden olan etkenlerin büyük bir bölümü bakterilerdir. KF’li hastaların solunum yollarının bakteriyel patojenlerle kolonizasyonu ve infeksiyonu genellikle akciğer fonksiyonlarında bozulma, solunum yetmezliği ve ölümle ilişkilidir (1). Alt solunum yollarına ait infeksiyonlar çocukluk çağından itibaren sık görülmeye başlar. İlk yıllarda etken sıklıkla *Staphylococcus aureus* iken sonraki yıllarda yerini *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*)’ya bırakır (2). Akciğer infeksiyonlarının önlenmesi veya tedavi edilmesine yönelik uygulamalar, kistik fibrozisdeki en önemli amaçlardan biridir. Solunum yolunda kolonize olan *P.aeruginosa* uzun dönemde en önemli patojendir. *P.aeruginosa* suşları zaman içerisinde fenotipik olarak farklılaşma göstermektedir. KF’li hastalarda kolonize olan *P.aeruginosa* suşlarının fenotipik özellikleri zaman içinde değişebileceği gibi, bir hastada bir veya daha fazla genotip saptanabilmektedir. *P.aeruginosa*’nın kolonize olmasının önlenmesinde, oluşturduğu akut alevlenmelerin tedavisinde yeni ilaçların bulunması için çalışmalar sürdürülmektedir. Hastalığın genotipik ve fenotipik olarak çok değişkenlik göstermesi nedeniyle *P.aeruginosa* kolonizasyonu ile ilişkili faktörler tam olarak bilinmemektedir. Son zamanlarda KF’li hastalardan elde edilen *P.aeruginosa* suşları ile ilgili epidemiyolojik çalışmalarda genetik yöntemler uygulanmaktadır (3). Birçok DNA dayalı genotiplendirme yöntemlerinden ‘Pulsed-Field Gel Electrophoresis’ PFGE’nin etkili ve duyarlı olduğu bilinmektedir (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16). Bu tez çalışması ile KF’li hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* izolatlarının fenotipik özelliklerinin, genotiplerinin araştırılması; bulguların hastaların izleminde klinik açıdan öneminin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı tarafından KF tanısı ile takipli olup, solunum yolları *P.aeruginosa* ile kolonize olan 22 ay - 22 yaş arası, 10 kız, 9 erkek olmak üzere toplam 19 hasta alındı. Hastaların almakta olduğu tedaviler kaydedildi. Son bir yıl içinde geçirilen akciğer alevlenmelerinin sayısı kaydedildi, kan sayımı ve biyokimya, uyum sağlayabilen hastalara solunum fonksiyon testleri (SFT) yapıldı, beslenme durumunun göstergeleri olan boy, tartı ve vücut kitle indeksi (VKİ) değerleri izlendi.

KF’li çocuk hastaların solunum yollarında kolonize olan veya infeksiyonlara yol açan *P.aeruginosa* suşlarının genotipleri ile ilgili dünyada ve ülkemizde kısıtlı sayıda çalışma yapılmıştır. Hastaların klinik bulgularının *P.aeruginosa* suşlarının fenotipik özellikleri ve genotipleri ile nasıl ve ne derecede ilişkili olduğu henüz tam bilinmemektedir. Literatürde kistik fibrozlu hastalarda *P.aeruginosa* kolonizasyonunu önlemek için hızlı ve etkili tedavi yöntemlerinin önemini belirtilmektedir. Bu nedenle KF’li hastalarda *P.aeruginosa* infeksiyonu uygun antibiyotiklerle yeterli sürede tedavi edilmeli, endikasyonu olan hastalarda inhale antibiyotikler geciktirilmeden kullanılmalıdır.

Çalışmamızın sonucunda kistik fibrozisli çocuk hastaların solunum yollarında bulunan *P.aeruginosa* suşlarının; fenotipik özelliklerinin çok çeşitlilik gösterdiği, fenotipik özellikleri ile genotipleri arasında ilişki olmadığı, hastadan hastaya yayılım gösterdiği saptanmıştır. *P.aeruginosa* ile kolonize kistik fibrozisli çocuk hastaların ayaktan ve yatırılarak tetkik ve tedavi edildikleri merkezlerde; izolasyon, el hijyeni, tıbbi malzeme ve hastaların bulunduğu ortamların temizliği gibi infeksiyon kontrol önerilerine bu nedenle dikkat edilmelidir.

Ayrıca; KF’li çocuk hastalarda kolonize olan *P.aeruginosa*’nın epidemiyolojisini daha iyi anlayabilmek, infeksiyon kontrolünü sağlayabilmek için çok merkezli, multidisipliner ve özellikle moleküler çalışmaları da kapsayan birçok çalışma yapılması gerekmektedir

SUMMARY

Cystic fibrosis is a fatal disease inherited in an autosomal recessive pattern, which is seen most frequently in the caucasians. The major reason for morbidity and mortality in cystic fibrosis is the respiratory failure that develops in connection with recurrent pulmonary infections. A large portion of the factors causing pulmonary infection are associated with bacteria. Respiratory tract colonization and infection in CF patients by bacterial pathogens are commonly associated with deterioration and lung function decline, and ultimately lead to pulmonary failure and death. One of the main objectives in cystic fibrosis is to use practices targeting prevention or treatment of pulmonary infections. The most important long-term pathogen is *Pseudomonas aeruginosa* colonizing in the respiratory tract. *P.aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis should be treated with appropriate antibiotics for an adequate period of time and inhaled antibiotics should be used without delay in patients who have indications.

Phenotypic characteristics of *P.aeruginosa* strains isolated from CF patients respiratory specimens may change over time. One or more *P.aeruginosa* genotype can be detected in same patient. Works are still underway to develop new medicines to prevent colonization of *P.aeruginosa* and to treat the acute exacerbations caused by it. Typing of *P.aeruginosa* isolates obtained from CF patients is difficult with conventional methods which depend on phenotypic characteristics. Genetic methods are used in recent epidemiological studies about *P.aeruginosa* strains isolated from CF patients. Of the many DNA-based typing methods, 'Pulsed-Field Gel Electrophoresis' (PFGE) seemed to be an efficient and sensitive.

A total of 19 patients, 10 being females and 9 males, aged between 22 months and 22 years were included in the study. The pre-study treatments they have been using were recorded. Their body mass index at the baseline, the number of lung exacerbations they had in quarterly periods in a year have also been recorded. Upon completion of the study, a blood count, biochemical test, serum 25 OH vitamin D level measurement, and sputum/oropharyngeal culture test were administered to the patients and a respiratory function test to those who could demonstrate compliance.

In our study we found substantial phenotypic diversity among *P.aeruginosa* isolates obtained from CF patients respiratory specimens. In addition, there was no association between

phenotypic properties and genotypes of these *P.aeruginosa* isolates. The results of our study suggest that patient-to-patient transmission exists and should not be dismissed. Infection control recommendations, which stress hand hygiene, transmission-based precautions and care for respiratory equipment should be meticulously executed.

Further studies of molecular characteristics of *P.aeruginosa* in CF children in Turkey are required to give us a more comprehensive insight into actual epidemiology and state of infection control.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

KF beyaz ırkta en sık görülen, ölümcül, otozomal resesif geçişli hastalıktır. Yedinci kromozomda bulunan Kistik Fibroz Transmembran Regülatör (KFTR) genindeki mutasyon nedeniyle oluşur (17). Mutasyona bağlı olarak egzokrin epitel hücrelerinin apikal yüzünde bulunan klor kanallarındaki defekt, anormal iyon transferine neden olur. Egzokrin sekresyonların dehidrate olmasıyla, başta solunum sistemi ve gastrointestinal sistem olmakla birlikte hepatobiliyer sistem ve genitoüriner sistem hastalıktan etkilenmektedir. Modifiye edici genler ve bu genlerin KFTR ile olan direkt ya da indirekt etkileşimi etkilenen organlarda farklı şiddette hastalığa yol açmaktadır. Aynı KFTR genotipine sahip bireylerde dahi farklı şiddette seyrebilmektedir (18- 23). Klinikte sadece akciğer veya sadece gastrointestinal sistem tutulumu olabileceği gibi bunların birlikteliği de görülebilir.

Kistik fibrozda morbidite ve mortalitenin en önemli nedeni tekrarlayan endobronşiyal akciğer infeksiyonlarına bağlı gelişen ilerleyici obstrüktif akciğer hastalığı, bronşektazi ve solunum yetersizliğidir (24). Akciğerdeki koyu ve yapışkan karakterdeki mukusun atılmasındaki yetersizlik nedeniyle tekrarlayan akciğer infeksiyonu oluşur. Tekrarlayan akciğer infeksiyonuna bağlı nötrofilik inflamasyon da akciğer hasarının artmasına katkıda bulunur. KF’de akciğerlerin yapısı; infeksiyon, inflamasyon, yendien yapılanma ve fibrozis ile sürekli olarak değişir (25).

Akciğer infeksiyonuna neden olan etkenlerin büyük bir bölümü bakterilerdir. Hastalığın erken dönemlerinde önce *S.aureus* ve *H.influenzae* görülürken, daha sonraki yaşlarda başlıca patojen *P.aeruginosa* olmaktadır.

Erken antipsödomonal tedavi havayollarını *P.aeruginosa*’dan temizlerse de, bakteri kronik olarak yerleştikten sonra eradikasyon tedavisine sıklıkla dirençli olur (26, 27, 28). Solunum yolu infeksiyonları için son yıllarda geliştirilen antibiyotikler, yaşam beklentisinin uzamasına yardımcı olmuştur. Akciğer infeksiyonlarının önlenmesi veya tedavi edilmesine yönelik uygulamalar, KF’deki en önemli amaçlardan biridir.

SFT’de belirlenen akciğer fonksiyonu ile KFTR mutasyonu veya tanı anındaki ter klorür düzeyi arasında herhangi bir ilişki yoktur (24, 29– 33). Ancak ter klorür düzeyi, pankreatik fonksiyon durumu ve *P.aeruginosa* infeksiyonu riski; KFTR mutasyonu ile bağıntılıdır. Aynı genotipe sahip KF’li bireylerde gözlenen akciğerlerdeki fenotipik farklılıkların nedenleri;

modifiye edici genler, genetik olmayan faktörler veya modifiye edici genlerle genetik olmayan faktörlerin etkileşimidir (34).

Kistik fibroz hastalarının yakın izlemi ve tedavi alanındaki gelişmelere bağlı olarak ortalama yaşam süresinin uzatılması başarılmıştır. Buna rağmen hastalığın en önemli morbidite ve mortalite nedeni olan tekrarlayan akciğer infeksiyonları sorun oluşturmaya devam etmektedir. Solunum yolunda kolonize olan *P.aeruginosa* uzun dönemde en önemli patojendir.

P.aeruginosa ile gelişen akciğer hastalığı çok erken yaşta başlayabilir ve solunum yolu kültürlerinde sıklığı yaşla birlikte artmaktadır (35). Kronik *P.aeruginosa* infeksiyonunun; sağkalım süresinde azalma, akciğer radyografi bulgularında kötüleşme, akciğer alevlenmeleri, kötü beslenme durumu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (36- 38). KF hastalarında *P.aeruginosa* infeksiyonu, ilk başta genellikle geçicidir; ancak zamanla mukoid suşların neden olduğu ve bakterinin eradike edilmesinin mümkün olmadığı kronik infeksiyona doğru ilerler (39, 40). Son rehberler, ilk *P.aeruginosa* infeksiyonun saptanarak eradike edilmesinin kronik infeksiyonun önlenmesi ve geciktirilmesi için çok önemli olduğunu vurgulamaktadırlar (41- 44).

P.aeruginosa çevrede sık rastlanan, insanlarda ölümle sonuçlanabilen fırsatçı infeksiyonlara neden olan bir bakteridir. Antimikrobiyal tedavi altında hızlı ve çoklu ilaç direnci geliştirerek tedaviyi zorlaştırmaktadır. Çalışmalar geniş ve esnek genom yapısının, stresli çevre koşullarına uyum sağlamasını ve bu koşullarda yaşamasını kolaylaştırdığını göstermektedir (45). Şu an için hangi genomik özelliğin ne şekilde ve derecede etkili olduğu açık değildir (46).

Mikrobiyal toplulukların genetik yapısı ile yapılan çalışmalar; infeksiyon hastalıklarının gelişimini, ekolojisini, epidemiyolojisini anlamada çok önemlidirler (47, 48, 49). KF hastalarından elde edilen *P.aeruginosa* suşlarının moleküler tiplendirilmesi epidemik suşların varlığını, bazı epidemik *P.aeruginosa* suşlarının hasta morbiditesinde artışla ilgili olduğunu açığa çıkarmıştır (50- 58).

Son çalışmalar; biribiri ile bağlantısı olmayan KF hastalarının, modern moleküler yöntemlerle birbirinden ayrılamayan suşları paylaştıklarını; konağa ait özelliklerin de rol oynadığını göstermektedir (59, 60, 61). Buna rağmen, KF hastalarında sık saptanan bu suşların kaynağı açık değildir (54, 62, 63, 64). *P.aeruginosa* topluluklarının genetik yapılarının anlaşılması bu açıdan çok önemlidir.

P.aeruginosa suşlarının moleküler tiplendirmesini birçok KF kliniğinde rutin olarak uygulanmamaktadır. Klonal suşların paylaşımı sanıldığı gibi aksine çok daha sık olabilir. Fenotipik göstergeler ve antibiyotik duyarlılığı gibi rutin laboratuvar yöntemleri epidemik suşları saptamada güvenilir değildir. KF kliniklerinde hasta izolasyon uygulamalarına yön vermek için de *P.aeruginosa* izolatlarının genotipik analizleri gereklidir (56).

PFGE moleküler tiplendirme yönteminde; tüm genom restriksiyon endonükleazları ile parçalanır ve meydana gelen DNA parçaları incelenir. Yüksek ayırım yapabilme özelliği nedeniyle mikrobiyolojik moleküler tiplendirme yöntemleri arasında altın standarttır (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 53, 54, 65- 67).

Klonal, dominant, bulaşıcı suşları saptamak fenotipik özelliklere dayanan yöntemlerle mümkün değildir; epidemiyolojik sürveyans ve moleküler genotiplendirme yöntemlerini gerektirmektedir (52).

Birçok çalışmada; bir hastada bulunan farklı koloni morfolojisinde izolatın çoğunluğunun aynı genotipe ait olduğu, *P.aeruginosa* fenotipi ile genotipi arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir (68, 69). *P.aeruginosa* suşlarının uzun süreli, moleküler yöntemlerle tiplendirilmelerinin; KF hasta toplumunda infeksiyon kontrolü açısından merkezi rolü birçok çalışmada önemle vurgulanmaktadır (52).

Bu tez çalışması ile KF'li hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* izolatlarının fenotipik özelliklerinin genotip ile ilişkisinin araştırılması; bulguların hastaların izleminde klinik açıdan öneminin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızın sonucunda elde edilecek bulgularla kistik fibrozisli çocuk hastaların solunum yollarında bulunan *P.aeruginosa* suşlarının fenotipik özelliklerine ve genotiplerine göre izlem sıklıkları, tedavi yöntemleri gözden geçirilecek ve sonuçlarına göre hastaların izolasyon, izlem ve tedavi yöntemlerindeki yaklaşımlar irdelenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TANIM VE TARİHÇE

Kistik fibroz beyaz ırkta en sık görülen, yaşam süresinde kısalmaya neden olan genetik multisistemik bir hastalıktır. Kistik Fibroz Transmembran Regulator (KFTR) proteinin kodlandığı gende oluşan mutasyonlar sonucu oluşur. Egzokrin sekresyon yapan epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde bulunan klor kanallarındaki defekte bağlı olarak sekresyondaki klor miktarı yükselir, sekresyon dehidrate olur. Başlıca bulgular tekrarlayan akciğer infeksiyonları ve bronşektazi, egzokrin ve endokrin pankreas yetersizliği, büyüme geriliğidir. Hastalığın moleküler ve biyolojik altyapısının daha iyi anlaşılmasıyla birlikte tedaviye yönelik yeni yaklaşımlar ortaya çıkmakta ve hastaların yaşam süresi uzatılmaktadır.

17. yüzyılda söylendiği bilinen Alman deyişindeki "alından öpüldüğünde tuz tadı alınan çocuklar ne acıdır ki büyülenip yakında ölecektir" ifadesi kistik fibrozla ilgili ilk bilgi olarak belirlenmiştir. Hastalığı 1938'de ilk olarak tanımlayan Dorothy Hansine Andersen olmuştur. Pankreasta genişlemiş safra kanalları ve fibrozis varlığını, "pankreasın kistik fibrozisi" olarak isimlendirmiştir. 1945'te Sidney Farber hastalığın solunum ve sindirim sistemindeki koyu mukus salgısı ile ilişkili olduğunu bildirmiş, mukovisidosis isimlendirmesini yapmıştır. 1959'da Gibson ve Cooke, kistik fibroz tanısı için pilokarpin iyontoforez yöntemiyle terde elektrolit düzeyinin ölçümünü bildirmiştir (70). 1985'te Tsui ve arkadaşları, kistik fibrozla ilgili genin 7. kromozomda bulunduğunu açıklamıştır (71). 1989'da ise Kerem ve arkadaşları kistik fibroza neden olan mutasyonun bulunduğu geni tesbit etmiş ve "Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator" olarak isimlendirmiştir (72).

2.2. EPİDEMİYOLOJİ VE GENETİK

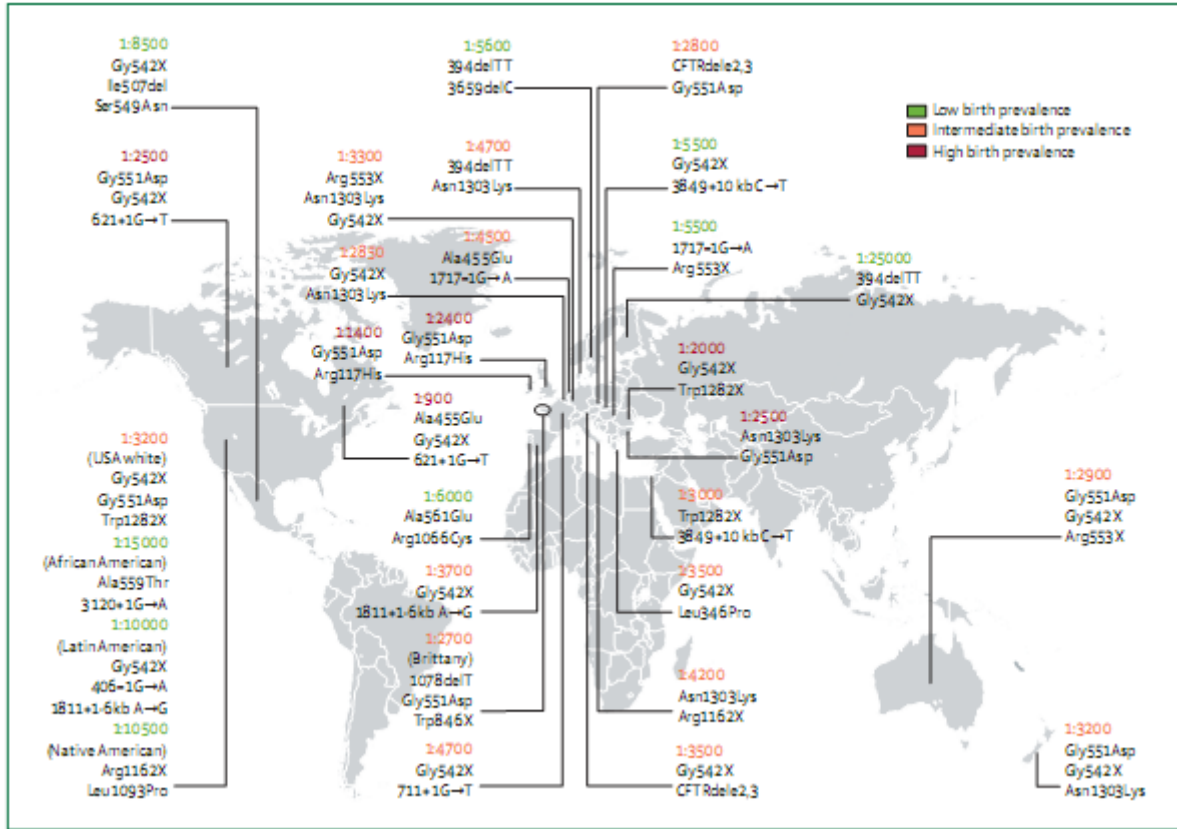
KF'nin en sık görüldüğü popülasyon Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika, Avustralya ve Yeni Zelanda'daki beyaz ırktır. Irklara ve ülkelere göre hastalığın sıklığı değişmektedir. En sık görüldüğü topluluktan biri olan Kuzey Avrupa'da yaklaşık 3000 canlı doğumda bir görülür (73). Hastalığın insidansı Fransa'da $1/4600$, İtalya'da $1/4238$, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'ndeki beyaz ırkta $1/3200$ ve İngiltere'de $1/2415$ olarak bulunmuştur (74- 77). Türkiye'de yapılmış geniş çaplı çalışma olmamakla birlikte insidansın $1/3000$ olduğu bildirilmiştir (78). Fakat akraba evliliğinin sık görüldüğü ve ilk beş yaş içinde solunum yolu infeksiyonları ve ishalden ölümün ilk sıralarda yer aldığı dikkate alınırinsa insidansın daha yüksek olduğu varsayılabilir (79). Yedinci kromozomun uzun kolunda (7q31.2) yer alan ve 230 kilobaz uzunluğunda olan kistik fibroz geni, 1480 aminoasitten oluşan KFTR proteinini kodlar. Günümüzde kistik fibroz geninde saptanan mutasyon sayısı 1876'ya ulaşmıştır (80). Homozigot mutasyon varlığında klasik kistik fibroz hastalığı gelişirken, heterozigot mutasyonlar kısmi fonksiyon gösteren daha iyi prognozla ilişkilidir. Mutasyonların % 40.67'si "missense-yanlış anlamlı", % 16.1'i "frameshift-çerçeve kayması", % 11.99'u "splicing-kırılma", % 8.53'ü "nonsense-anlamsız", % 1.97'si "in frame insersiyon/delesyon-çerçevede baz fazlalığı/kaybı", % 2.56'sı geniş "insersiyon/delesyon-baz fazlalığı/kaybı", % 0.8'i "promoter-başlangıç bölgesi" mutasyondur. Geri kalan % 14.34'ü ise klinik önemi olmayan "sekans varyasyonları-dizi değişiklikleridir" (80). De novo mutasyonlar ve uniparental disomi son derece nadirdir.

En sık görülen ve ilk tanımlanan mutasyon, 3 baz çiftinin delesyonu ile 508. pozisyonadaki fenilalaninin kaybına yol açan $\Delta F508$ adıyla da bilinen Phe508del (F508del) mutasyonudur. Bu mutasyonun dünyadaki tüm mutasyonlara oranı % 66'dır (81,82). F508del mutasyonunun coğrafi olarak kıtalara göre dağılımı ise tablo 1'de gösterilmiştir. Görülme sıklığı % 1'in üzerinde olan dört mutasyon tipi; G542X (% 2.4), G551D (% 1.6), N1303K (% 1.3) ve W1282X (% 1.2)'dir (80). Türkiye'de yapılmış çalışmalarda F508del mutasyon sıklığı % 18.8 - 28.4 olarak bulunmuştur (83-85). Dünyadaki çeşitli coğrafik bölgelerde hastalığın sıklığı ve en sık görülen mutasyonlar Tablo 1'de ve Şekil 1'de gösterilmiştir (17).

Tablo 1. F508del mutasyonu sıklığının coğrafik dağılımı.

	%
Kuzey Avrupa	70.27
Güney Avrupa	55.03
Kuzey Amerika	66.1
Orta-Güney Amerika	45.11
Avustralya	74.6
Asya-Ortadoğu	28.45
Afrika	68.15

Şekil 1. Kistik fibrozun dünyadaki coğrafik bölgelere göre insidansı ve en sık görülen mutasyonlar



KFTR genindeki mutasyonlar, KFTR proteini üretimi ve fonksiyonunu altı farklı moleküler mekanizmayla bozar (Şekil 2) (86). İlk üç mutasyon daha ağır fenotipe sahipken, sonraki üç mutasyon daha iyi fenotipik bulgularla ilişkilidir.

Sınıf I Mutasyonlar (Anormal KFTR protein sentezi): Prematüre transkripsiyon sonlandırma sinyali sonucunda mRNA oluşumu kesintiye uğrar. Stabil olmayan anormal KFTR proteini apikal membrana ulaşmadan yıkılır ve KFTR proteini sentez edilemez. Frameshift ve nonsense mutasyonlar vardır. Fenotipik olarak ağır kistik fibroza neden olur. Bu sınıfa giren mutasyonların bir kısmı W1282X, G542X, R553X şeklinde sonunda X eki ile gösterilir. Kistik fibroz olgularının % 7'sini oluşturur.

Sınıf II Mutasyonlar (KFTR proteinin işlenmesinde bozukluk): KFTR proteini sentezlendikten sonra endoplazmik retikulum ile golgi aygıtında glikozilasyon ve şaperon adı verilen moleküllerle katlanma aşamasında bozukluğa neden olur. Missense mutasyonlar ve delesyonlar vardır. Kistik fibroz olgularının % 85'ini oluşturur. F508del ve N1303K mutasyonu bu gruptadır.

Sınıf III Mutasyonlar (KFTR proteininin düzenlenmesinde bozukluk): KFTR klor kanalı aktivitesi, protein kinaz tarafından fosforilasyon, protein fosfataz tarafından defosforilasyon ile düzenlenir. Bu grupta KFTR proteini sentezlenir, sitoplazmada işleminden geçirilerek apikal membrana yerleşir. Fakat mutasyonlara bağlı olarak fosforilasyon ve ATP bağlanmasına direnç gelişir. Missense mutasyonlar nedeniyle oluşur. Kistik fibroz olgularının % 3'ünü oluşturur. G551D mutasyonu bu gruptadır.

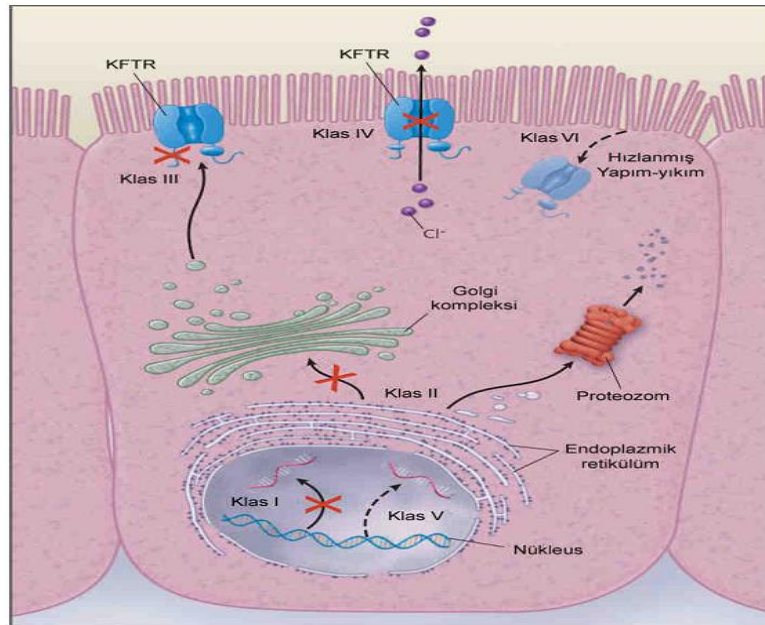
Sınıf IV Mutasyonlar (KFTR kanal geçirgenliğinde bozukluk): KFTR proteini üretimi, işlenmesi ve apikal membrana yerleşmesinde herhangi bir problem yoktur. Bu mutasyonu taşıyan kişilerde KFTR proteininin fosforilasyonu, klor kanalı geçirgenliğinin azalmasına neden olur. R117H, R334W ve R234P mutasyonları bu grupta yer alır. Missense mutasyonlar nedeniyle oluşur. Bu mutasyonlardan bir veya ikisini bulunduran hastalar daha hafif bir kliniğe sahiptir.

Sınıf V Mutasyonlar (KFTR proteini üretiminde yetersizlik): Normal ve anormal transkripsiyonların oluşumuna bağlı olarak KFTR proteininin üretiminde azalmaya neden olur. Oluşan normal ve anormal proteinin miktarı hastalar arasında ve aynı hastadaki organlar arasında farklılık gösterebilir. Bu mutasyonu taşıyan hastalar hafif akciğer hastalığı, yeterli

pankreas fonksiyonu ve erkek infertilitesi ile göreceli olarak hafif kliniğe sahiptir. 3849+10 kb C >T, 3272-26 A>G, D565G ve G576A mutasyonları bu gruptadır.

Sınıf VI mutasyonlar (KFTR proteinin hücre yüzeyinde stabilitesindeki bozukluk): KFTR proteini üretimi ve fonksiyonu normal olmasına rağmen, hücre yüzeyindeki stabilitesi bozuktur. Ayrıca diğer iyon kanallarının geçirgenliğinde azalmaya neden olur. Nonsense ve frameshift mutasyonlar görülür. Q1412X, 4326delTC ve 4279insA mutasyonları bu gruptadır. Kistik fibrozun monogenik bir hastalık olmasına rağmen, aynı genetik mutasyonu taşıyan kişilerde, özellikle akciğer hastalığının şiddeti açısından belirgin farklılık olduğu görülmüştür. Genotip ile fenotip arasındaki ilişkiyi inceleyen araştırmacılar, diğer genetik ve çevresel faktörlerin rol aldığı karmaşık bir kalıtım olduğunu düşünmüşlerdir. İmmünite ve inflamatuvar yanıt üzerinde etkili "mannose-binding lectin 2 (MBL2)", antiproteaz etkili "alfa 1 antitripsin (A₁AT)" ve inflamatuvar süreçte yer alan "transforming growth factor beta 1 (TGFB1) üretimini düzenleyen genler, kistik fibroz fenotipini etkileyen "modifier-değiştirici" genler olarak öne çıkmıştır (87).

Şekil 2. KFTR genindeki mutasyonların sınıflandırılması.



KF'nin genetik modeli karmaşıktır. Modifiye edici genler ve bu genlerin KFTR ile olan direkt ya da indirekt etkileşimi etkilenen organlarda farklı şiddette hastalığa yol açmaktadır. Aynı KFTR genotipine sahip bireylerde dahi hastalık farklı şiddette seyredebilmektedir (18- 23,

34). İntestinal obstrüksiyon, ekzokrin pankreas yetersizliği ve KF ilişkili diyabet hemen daima ‘ciddi’ KFTR genotipine sahip hastalarda görülmektedir. Ciddi KFTR genotipe en sık neden olan mutasyon delF508’dir (18- 23).

Akciğer fonksiyon testi ile belirlenen akciğer fonksiyonu ile KFTR mutasyonu ve tanı anındaki ter klorür düzeyi arasında herhangi bir ilişki yoktur (24, 29– 33). Ancak ter klorür düzeyi, pankreatik fonksiyon durumu ve *P.aeruginosa* enfeksiyonu riski KFTR mutasyonu ile bağıntılıdır (34).

KF ilişkili diyabet (CFRD), KF ilişkili karaciğer hastalığı, kronik *P.aeruginosa* enfeksiyonu, akciğer fonksiyonunda ilerleyici bozulma gibi ciddi KF ilişkili fenotiplere yol açan modifiye edici genler çeşitli yayınlarda bildirilmiştir (88- 91).

2.3. FİZYOLOGİ

2.3.1. Kistik Fibroz Transmembran Regülatör (KFTR) Proteini

KFTR proteini, membran proteinleri ailesinin ATP bağlayıcı protein grubu üyesidir. KFTR proteininin üretimi oldukça karmaşık bir süreçtir. DNA’dan mRNA, mRNA’dan peptid oluşumu sırasında endoplazmik retikulumda uygun katlanma süreci sağlanır. Katlanma sürecinde aksama olursa oluşan protein ortadan kaldırılır. Endoplazmik retikulumdan golgi kompleksine iletilen proteinin glikozilasyon ve katlanma aşamaları tamamladıktan sonra plazma membranına ulaştırılır. Burada subapikal veziküller tarafından alınarak apikal yüzeye yerleştirilir (86).

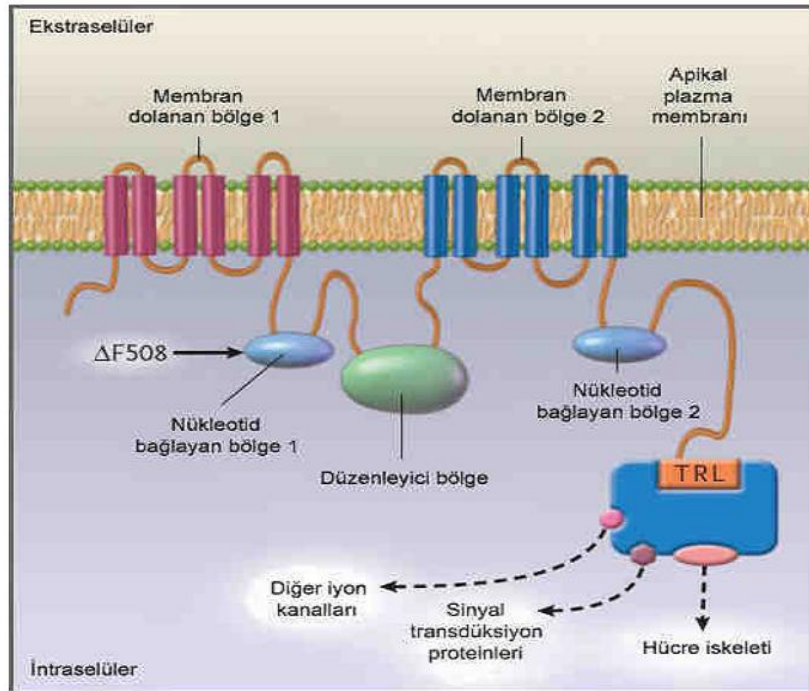
KFTR proteininin yapısı; iki adet membran dolanan bölge, bir adet düzenleyici bölge ve iki adet nükleotid bağlayıcı bölgeden oluşur (Şekil 3). Membran dolanan bölge, kanalın deliklerini oluşturan altı adet alfa heliksinden meydana gelir. Bir adet membran dolanan bölgenin varlığı klor kanalı oluşumu için yeterlidir. Her iki membran dolanan bölge, nükleotid bağlayan bölgelerle etkileşimdedir (86).

Düzenleyici bölge, üzerinde çok sayıda fosforilasyon alanı içerir. Kanalın çalışması için öncelikle cAMP bağımlı protein kinaz-A ve C tarafından düzenleyici bölge fosforile edilir. Bundan sonra nükleotid bağlayan bölge-1 ATP’yi bağlayıp hidrolize ettiğinde klor kanalı

açılır. Düzenleyici bölge tamamen fosforile olduğunda nükleotid bağlayan bölge-2'ye bağlanan ATP kanalın stabilizasyonunu ve daha uzun süre açık kalmasını sağlar. Nükleotid bağlayan bölge-2'ye bağlanan ATP'nin hidrolizi ile klor kanalı aktivitesi sonlanır. Düzenleyici bölge desfosforile olduktan sonra tekrar refosforile edilmediği sürece, nükleotid bağlayan bölgeler ATP'yi bağlayıp kanal aktivitesini başlatamazlar. Tipik F508del mutasyonu nükleotid bağlayan bölge-1'i etkiler (86).

KFTR proteininin ayrıca epitelyal sodyum kanalı inhibisyonu, dışa doğru uzanan klor kanalı aktivasyonu, renal potasyum kanallarının duyarlılaştırılması gibi birçok fonksiyonu da vardır. KFTR proteini yokluğunda inflamatuvar yanıtta, iyon transportu ve hücre içi iletişimde rol alan proteinlerin yapımı da etkilenir. Bu proteinler KF fenotipinin potansiyel modifiye edicileri olarak, aynı genotipi taşıyanlarda farklı fenotipik özelliklerin varlığını açıklamaya yardımcı olmaktadır (86). KFTR proteininin yarı ömrü 16 saat olup sonunda lizozomlarca parçalanır (92). Belirgin akciğer hastalığının önlenmesi için, epitel hücrelerindeki KFTR proteini aktivitesinin en az % 35 olması gerektiği düşünülmüştür (93).

Şekil 3. Kistik fibrozis geni ürünü olan KFTR proteininin yapısı.



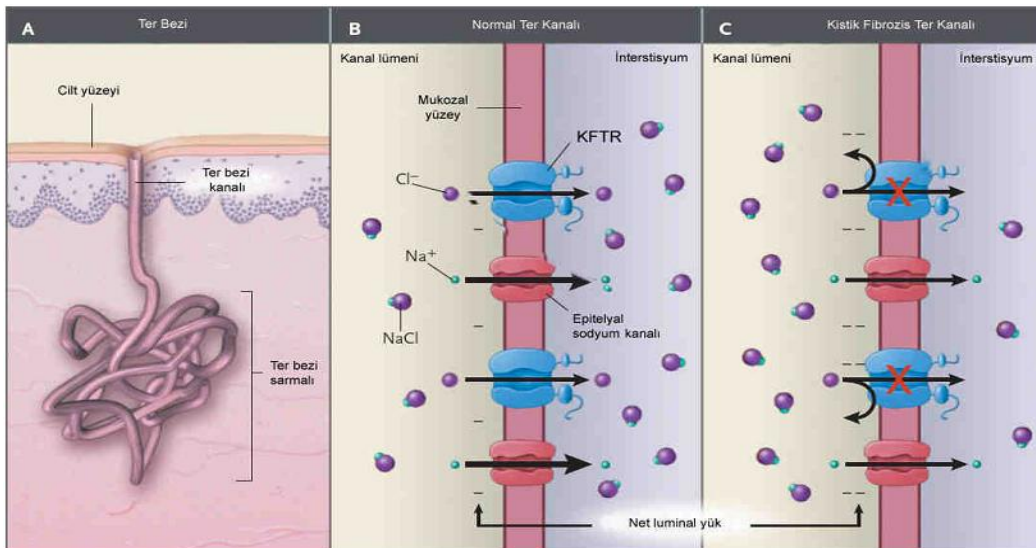
KFTR proteini fonksiyonunu kaybettiğinde, epitelyal sodyum kanalının fonksiyonu da bozulduğundan hücre içine sodyum ve klor geçişi olur. Suyun elektrolit akışını takip etmesiyle mukus sekresyonu yeteri kadar hidrate edilemez. Böylelikle lümendeki obstrüksiyon, tekrarlayan inflamasyon ve fibroz süreçleriyle etkilenen organın hasarına neden olur (81).

KFTR proteini akciğer, pankreas, gastrointestinal kanal, karaciğer, ter bezleri ve üreme sistemi gibi birçok organın epitelyal hücrelerinde klor kanalı olarak su ve tuz dengesinin sağlanmasında görev alır (94).

2.3.2. Ter Bezi Fizyopatolojisi

KF'li hastaların ter bezlerinde obstrüksiyon ve patolojik değişiklikler genellikle görülmez. Esas patoloji sekresyondaki sodyum ve klor dengesinin sağlanamaması ile ilişkilidir. Normal şartlarda ter bezleri tarafından üretilen ter, cilt yüzeyine çıkmadan önce ter bezi sarmalına gelir. Burada epitelyal sodyum kanalları ve klor kanalları aracılığıyla sodyum ve klor geri emilimi sağlanır. Sodyum geri emilimi klor iyonu akışını takip ettiğinden, KF'de lümende klor ve sodyum birikimi olur. Lümendeki klor iyonu sodyumdan fazla bulunduğu için, lümendeki transepitelyal voltaj normalden 2-3 kat daha negatiftir (Şekil 4) (86).

Şekil 4. Kistik fibrozda ter bezi fizyopatolojisi.



2.3.3. Solunum Yolu Epiteli Fizyopatolojisi

KFTR proteininin akciğerdeki dağılımı, yüzey epitelinde seyrek iken submukozal bezlerde sıktır. Kistik fibrozda akciğerdeki koyu ve yapışkan sekresyonlar, distal havayolları ve submukoz bezlerin kanallarında obstrüksiyona neden olur. Patolojik olarak, submukoz bezlerin mukusla tıkanmış kanallarında dilatasyon, solunum yolu epitelinde nötrofilden zengin koyu ve yapışkan mukopürülan sekresyon görülür. Submukozal alandaki bezlerde belirgin hiperplazi, peribronşiyal inflamasyon ve skar dokusu ile çevrelenmiştir. Sağlıklı insanlarda submukozal bezlerin kanalları çok belirgin değilken, mukus nedeniyle genişlemiş lümen varlığı kistik fibrozda yenidoğan ve çocukların akciğerlerindeki en erken değişikliklerdir.

P.aeruginosa, *Burkholderia cepacia*, *S.aureus*, *H. influenzae* gibi patojenler, koyu ve yapışkan solunum yolu sekresyonlarına yerleşir tedavilere rağmen uzaklaştırılamazlar. Bu etkenlerden özellikle *P.aeruginosa* kistik fibrozdaki akciğer ortamına uyum sağlayarak, makrokoloniler (biyofilm) ve antibiyotiklerin doku penetrasyonunu engelleyen kapsüler polisakkarit (aljinat) oluştururarak mukoid türleri oluşturur.

Çoğu hasta *P.aeruginosa*'yı erken yaşlarında edinirler. *P.aeruginosa* edinme yaşı hasta prognozunda önemli bir belirleyicidir (58). İlk kolonizasyon tipik olarak vahşi-tip fenotipik özellikler gösteren çevresel suşlarla olmaktadır (36, 37).

Mukoid fenotipin oluşmasından sorumlu MucA mutasyonuna sahip suşlar enfeksiyonun erken döneminde seçilirler. Seçilen bu suşlarla mukoid fenotip bir kez oluşuktan sonra enfeksiyonun antibiyotiklerle tedavisi çok zordur ve kronik enfeksiyon gelişir (41). MucA mutasyonu taşıyan suşlar, alginat aşırı üretiminin yanı sıra, azalmış virulansa sahiptirler (42). Alginat, kompleman aktivasyonunu inhibe ederek, nötrofil ve makrofaj fagositozunu azaltarak, serbest radikalleri uzaklaştırarak *P.aeruginosa*'yı yangının sonuçlarından korumaktadır (26, 43, 44). Kronik olarak enfekte hastaların balgamlarında yüksek miktarda alginat saptanmaktadır.

Akciğer fonksiyonlarının azalmasının bir diğer nedeni de, kronik enfeksiyonlara zemin oluşturan inflamasyondur. KF'li hastaların akciğerlerinde interlökin-8, interlökin-6, tümör nekrozis faktör alfa, lökotrien B₄ seviyelerinde artış, antiinflamatuvar sitokin ve proteaz seviyelerinde ise azalma gösterilmiştir (95).

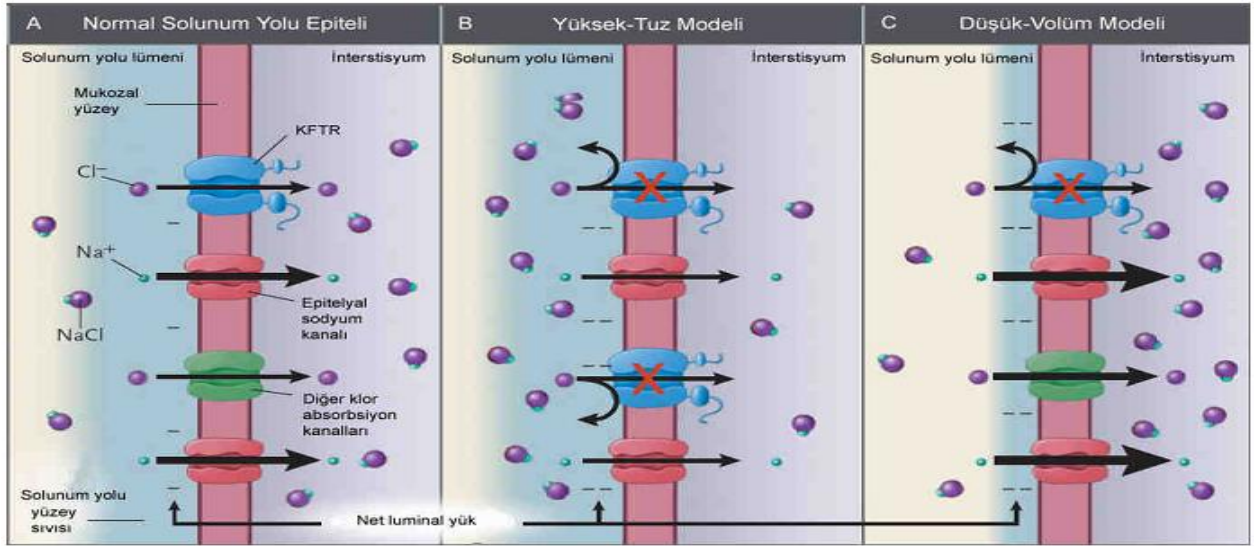
Akciğerler ve mukozal bezler doğumda histolojik olarak normaldir. Doğumdan itibaren bakteriyel patojenlerle oluşan infeksiyonların neden olduğu yoğun nötrofilik yanıt, peribronşiyal ve endobronşiyal alanı etkiler. KF'li çocuklarda yapılmış çalışmalarda bakteriyel infeksiyon ile solunum yolundaki şiddetli inflamasyon arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (97, 98). İleri yaşlardaki KF'li hastalarda tekrarlayan nötrofil baskınlığında solunum yolu inflamasyonu, IL-8 ve nötrofil elastaz düzeyinde artış görülür (98). Solunum yolu destek dokusunun proteolizi ve kondrolizi sonucunda bronş dilatasyonu ve bronşektaziler gelişir. Daha sonraki aşamalarda ise atelektazi, pnömoni, bronşiyal dolaşımın artması, bronşiyal kistler, hemoptizi, pnömotoraks ve pulmoner hipertansiyon görülür.

KF'de solunum yolu epitelindeki uzamış primer inflamatuvar yanıt, akut infeksiyondaki gibidir. KF'li hastanın immün yanıtı diğer kronik infeksiyonlardan farklı olarak makofaj aracılı granümatöz yanıt oluşturmaz. Bu durum inflamatuvar yanıtın sistemik immün yanıtın parçası olan T lenfositler tarafından değil, solunum yolu epiteli ile patojen etkileşimi tarafından düzenlendiğini göstermektedir (98).

Solunum yolu obstrüksiyonunu açıklamaya çalışan klasik "düşük volüm" hipotezinde; solunum yolu epitelinin, ter bezlerinden farklı bir mekanizmayla çalıştığı öne sürülür (Şekil 5). Buna göre KFTR proteini yokluğunda epitelyal sodyum kanalları aracılığıyla aşırı sodyum geri Emilimi olur. Akciğerde KFTR proteininden bağımsız klor geri Emilimi olduğundan, sodyum Emilimine ek olarak klor ve su geri Emilimi de olacaktır. Bu durum solunum yolunu örten sıvının azalması ve mukosiliyer aktivitenin bozulması ile sonuçlanacaktır (86).

Solunum yolu fizyopatolojisini açıklamaya çalışan "yüksek tuz" hipotezinde; solunum yolu epitelinin, ter bezleriyle aynı mekanizmayla çalıştığı öne sürülmüştür (Şekil 5). Burada KFTR proteininin klor geri Emilimi için en önemli sistem olduğu kabul edilir. Solunum yolunu örten sıvıda biriken sodyum ve klor, "human β -defensin-1" gibi endojen antimikrobiyal peptidlerin yapısında bozulmaya neden olur. *P.aeruginosa* gibi patojenlerin solunum yolu sekresyonlarından uzaklaştırılmasındaki yetersizlik ise tekrarlayan akciğer infeksiyonlarına yol açar.

Şekil 5. Kistik fibrozda solunum yolu epiteli fizyopatolojisini açıklamaya çalışan modeller.



P.aeruginosa'nın erken edinilmesi üzerine ağır KFTR mutasyonlarının (sınıf 1, 2, 3) etkisi hafif KFTR mutasyonlarına (sınıf 4, 5, 6) göre daha fazladır (24). Collaco ve ark.'nın son çalışmasında daha sıcak iklim bölgesinde yaşayan KF hastalarında *P.aeruginosa* edinimi 9-15 ay daha erken gerçekleşmekteği bildirilmektedir (99). İlk *P.aeruginosa* edinme yaşı, konak ve çevre koşulları arasındaki karmaşık etkileşimden etkilenmektedir (78).

Fonksiyon göstermeyen KFTR; havayolu yüzey sıvısının yapısını değiştirerek doğal bağışıklık yanıtında ve bakteriyel klirenste bozulmaya yol açabildiği gibi, direkt *P.aeruginosa*'ya bağlanarak, endobronşiyal enfeksiyona zemin hazırlamaktadır (103, 104). Ranganathan ve ark, tartı ve boy persantil yüksekliğinin anlamlı olarak kroyucu olduğunu bildirmişlerdir (105).

S.aureus, *S.maltophilia* ve *A.xylosoxidans* bakterilerinin izole edilmesi erken yaşta *P.aeruginosa* edinimi ile ilişkilidir. Daha önceki çalışmalar, *S.aureus*'un erken yaşta ilk *P.aeruginosa* edinimi için risk faktörü olduğunu, son çalışmalar ise daha büyük hastalarda mukoid *P.aeruginosa* enfeksiyonlarına karşı koruyucu olduğunu bildirmektedirler (106, 107). Bu nedenle *S.aureus*'un *P.aeruginosa* enfeksiyonundaki rolü hala belirsizdir.

S.maltophilia ve *A.xylosoxidans* ile erken *P.aeruginosa* edinimi arasında gözlenen ilişki, bu organizmaların daha yoğun antibiyotik tedavileri uygulanan dolayısıyla daha ciddi akciğer hastalığı olanlardan izole edilmesi ile açıklanabilir (24).

2.3.4. Pankreas Fizyopatolojisi

KFTR proteini, pankreas kanalındaki epitel hücrelerinin apikal membranında yer alarak, pankreas salgılarının hidrasyonunu ve klor-bikarbonat değiştiricileri ile alkalinizasyonunu sağlar. KFTR fonksiyonunu kaybettiğinde pankreas sekresyonlarının akışkanlığı ve alkalinizasyonu azalır, kanallarda tıkanıklık oluşur. Tıkanmış olan kanallar sindirim enzimlerinin bağırsağa drenajını engeller. Enzimlerin retansiyonu inflamatuvar yanıtı başlatarak pankreasın kendi kendini sindirmesine ve organın fibrozisine yol açar. KF’li hastaların hemen hemen hepsinde egzokrin pankreas fonksiyonlarına ait bozukluklar görülmektedir. Çoğu hastada pankreas doğum sırasında etkilenmiştir. Pankreastaki langerhans hücreleri başlangıçta fibrozisten korundukları için yaşamın ilk yıllarında insülin eksikliğine bağlı diyabet nadir görülür, fakat görülme sıklığı yaşla birlikte artar.

2.3.5. Diğer Egzokrin Bezlerin Fizyopatolojisi

KFTR proteini normalde bağırsakta yoğun bir şekilde bulunur ve fonksiyonu bozulduğunda lümeneye yetersiz sıvı sekrete edilmesiyle bağırsak içeriği dehidrate olur. Ayrıca solunum yolu epiteline benzer şekilde lümeneye klor sekresyonu bozulur, epitelyal sodyum kanalı aracılığıyla sodyum ve su Emilimi artar. Koyulaşan bağırsak içeriği nedeniyle intestinal obstrüksiyon olabilir. Yenidoğan döneminde mekonyum ileusu olarak adlandırılan bu durumun ileriki yaşlardaki karşılığı distal intestinal obstrüksiyon sendromu olarak bilinir. Nadiren dışkının bağırsak duvarına tutunması ile intusepsiyon gelişebilir. Mekonyum ileusu KF dışında nadiren görüldüğü için, görüldüğünde kistik fibroz için hemen hemen tanısal kabul edilir. KF’li yenidoğanların yaklaşık % 15’inde mekonyum ileusu görülür (81).

KFTR proteini intrahepatik ve ekstrahepatik safra kanallarının epitelyum hücrelerinde yer alır. Lümeneye sekrete edilen klor iyonları ve suyun etkisiyle, safra asidi ve proteinleri safra sıvısının içinde çözünebilir halde bulunur. KF’de sekresyonların klor ve sudan fakir olmasıyla koyulaşan safra sıvısı, safra kanallarında obstrüksiyona ve ileride siroza neden olabilir. İntrauterin dönemde vas deferens kanallarında oluşan obstrüksiyon nedeniyle atrofi gelişebilir.

2.4. KLİNİK BULGULAR

KF solunum yolu, pankreas, bağırsak, hepatobiliyer sistem, erkek genital kanalları ve ter bezleri epitellerini etkileyen, multiorgan hastalığıdır. KF ile ilişkili semptomlar hayatın herhangi bir döneminde, farklı derece ve kombinasyonlarda ortaya çıkabilir (Tablo 2).

Tablo 2. Kistik fibrozda semptom ve bulguların yaş gruplarına göre dağılımı.

BEBEK	ÇOCUK	ADOLESAN/ERİŞKİN
Sinopulmoner		
	ABPA, sinüzit, polipozis	ABPA, hemoptizi, pnömotoraks Solunum yetersizliği Sinüzit, polipozis, anosmi
Gastrointestinal		
Fetal bağırsak ekojenitesinde artış Mekonyum ileusu Pankreatik yetersizlik Rektal prolapsus	DİOS, intusepsiyon, steatore Rektal prolapsus Hepatik steatoz, biliyer fibroz, İdiopatik tekrarlayan pankreatit	DİOS, intusepsiyon Biliyer fibroz, siroz Sindirim sistemi malignitesi İdiopatik tekrarlayan pankreatit

Böbrek/Endokrin/Diğer		
Dehidratasyon	Böbrek taşı	Gecikmiş puberte, osteoporoz, KFİD
Hiponatremik-hipokloremik metabolik alkaloz	Hiponatremik-hipokloremik metabolik alkaloz	Böbrek taşı, böbrek yetersizliği KBVDY, HPO Artrit, vaskülit Hiponatremik-hipokloremik metabolik alkaloz

ABPA: allerjik bronkopulmoner aspergilloz, DİOS: distal intestinal obstrüksiyon sendromu, KFİD: kistik fibroz ilişkili diyabet, KBVDY: konjenital bilateral vas deferens yokluğu, HPO: hipertrofik pulmoner osteoartropati

2.4.1. Akciğer Tutulumu

Akciğer hastalığı KF'nin en değişken fenotipik özelliğini oluşturmaktadır. Ayrıca morbidite ve mortalitenin en önemli nedenidir (16, 105). Kistik fibrozlu hastaların akciğerleri doğumda normal görünmekle birlikte hızlıca enfeksiyon ve inflamasyon gelişir. Sağlıklı görünen sütçocuklarından elde edilen bronkoalveoler lavaj sıvısında bile polimorfonükleer hücreler gösterilmiştir (106). Kronik solunum yolu enfeksiyonu, bronşiektazi, hava hapsi ve hipoksemi/hiperkarbi akciğer hastalığının en belirgin özellikleridir. Klinik bulguların başlangıcı ve yoğunluğu oldukça değişkendir. Etkilenen bireylerde solunum sistemine ait semptomlar nadiren yenidoğan döneminde görülür. Altı aydan küçük bebeklerde taşipne, hışıltı, solunum işinde artış, hiperaerasyon ve öksürük görülebilir. Bu semptomlar solunum yolu viral enfeksiyonları tarafından alevlendirilebilir ve yanlışlıkla tekrarlayan bronşiyolit olarak değerlendirilebilir.

Genel olarak öksürük en belirgin semptomdur. Hafif derecede hastalığı olan bireylerde sadece alevlenmeler sırasında olan öksürük, zaman içinde her gün ve balgamla birlikte olmaya başlar. Hastalığın ilerlemesiyle balgam miktarı artar, rengi yeşil-kahverengiye döner. Akciğerde hava hapsine bağlı göğüs ön-arka çapı artar. Sonraki dönemlerde kanlı balgam

ıkarılması beklenmeyen bir bulgu değildir. Diğer kronik obstrüktif akciğer hastalıklarına benzer şekilde ilerleyen dönemlerde efor dispnesi ve solunum yetersizliği gelişmeye başlar. Son dönemde ise karbondioksit retansiyonu ile oksijen bağımlılığı, alevlenmelerin sıklığı hayat kalitesinde azalmaya yol açar.

Bakteriyel patojenlerle kronik olarak kolonize olmuş bir hastada solunum yolu ile ilgili semptomlar her gün görülebilir. Akciğer alevlenmesinde bu semptomların yoğunluğu reaktif havayolu hastalığı, viral solunum yolu enfeksiyonu ve hava kirliliğine bağlı olarak değişebilmektedir. Alevlenmeler hastane yatışlarına neden olması dışında genel olarak akciğer fonksiyonları ve yaşam beklentisi üzerine olumsuz etki etmektedir (107). Yapılan çalışmalarda akciğer alevlenmeleri sayısının, tedaviye yanıt ölçütü olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir (109, 110). Uluslararası kabul görmüş bir tanımlama olmamakla birlikte alevlenmenin tarif edilmesi için öneriler geliştirilmiştir (Tablo 3) (108, 110).

KF’li bebeklerin solunum yolunda öncelikle *S.aureus* ve *H.influenzae* kolonize olur. Bunların ardından ilerleyen yaşlarda *P.aeruginosa* en baskın mikroorganizma haline gelir (şekil 6) (111, 112). KF tanısıyla üç yıl izlenen 40 bebekte kolonizasyonun değerlendirildiği bir çalışmada, olguların % 98’inde üç yaşına gelindiğinde *P.aeruginosa* enfeksiyonunun kültürel veya serolojik bulguları saptanmıştır (113). Erişkin dönemindeki hastaların yaklaşık % 80’i *P.aeruginosa* ile kolonize olmuştur (112). Tekrarlayan enfeksiyon kemotaktik sitokinlerin üretimini ve salınımını artırarak, solunum yoluna çok sayıda polimorfonükleer hücre toplanmasını sağlar. Parçalanan nötrofillerden ortaya çıkan DNA balgamin daha yapışkan olmasına yol açar. Kronik *P.aeruginosa* enfeksiyonu, akciğer fonksiyonlarındaki hızlı azalma ile ilişkili bulunmuştur (37,114). Başlangıçta hastaların çoğunluğu antibiyotiklere göreceli olarak daha duyarlı mukoid olmayan *P.aeruginosa* suşları ile enfekte iken, zamanla mukoid suşlar etken olmaya başlar (124- 126). Yapılan çalışmalarda mukoid suşların erken dönemde kazanılmasının, kadın bireylerde toplam yaşam süresinin kısalmasıyla ilişkili olduğu saptanmıştır (117). evresinde oluşturduğu koruyucu biyofilm tabakasının antibiyotiklerin etkisini engellemesi nedeniyle mukoid suşların tedavi edilmesi daha zordur (118- 120).

Tablo 3. Kistik fibrozda akciğer alevlenmesine ait bulgular

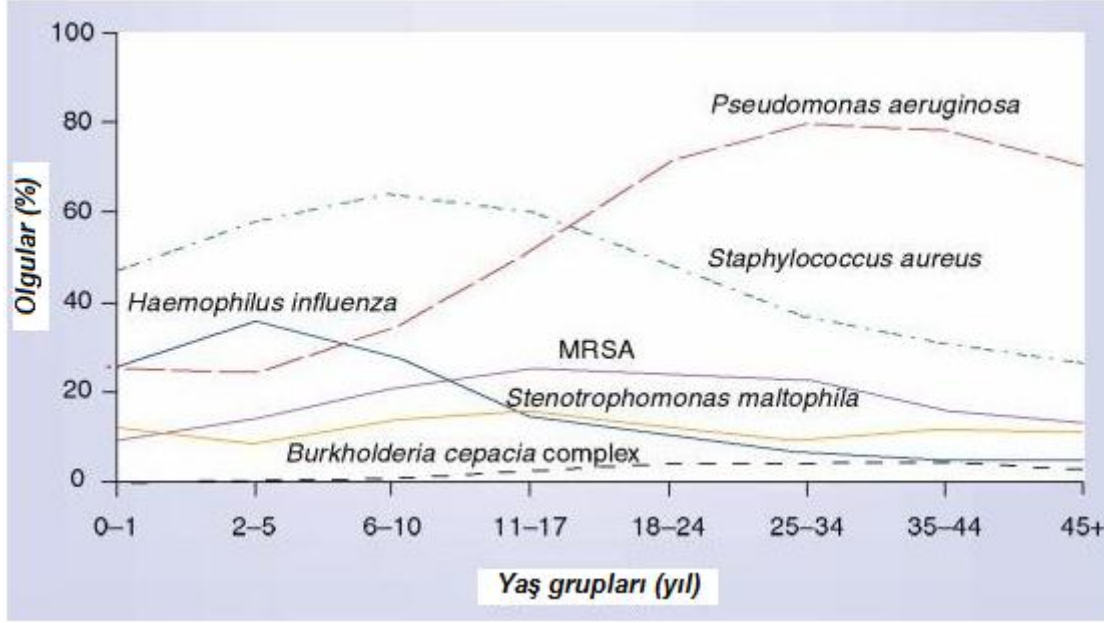
Semptom	A. Öksürüğün sıklık, süre ve yoğunluğunda artış B. Balgam miktarında artış C. Balgamın görünümünde değişiklik D. Hemoptizi E. Efor kapasitesinde azalma F. Ateş, iştahsızlık, halsizlik
Klinik	A. Dispne B. Taşipne C. Krepitasyonda artış D. Hava hapsinde artış E. Ateş F. Kilo kaybı
Laboratuvar	A. Son altı ay içindeki bazal FEV1 değerinde $\geq$ % 10 düşüş B. Akciğer grafisinde yeni infiltrasyon ve atelektazi C. Lökositoz D. Oda havasında satürasyonun $<$ % 90 veya önceki bazal değerden $\geq$ % 5 düşük olması

KF'li hastalarda kolonize olan *P.aeruginosa* suşlarının fenotipik özellikleri zaman içinde değişebileceği gibi, bir hastada bir veya daha fazla genotip de saptanabilmektedir. Bu hastalardan elde edilen *P.aeruginosa* izolatlarının konvansiyonel fenotipik metodlar ile tiplendirilmesi zor olmaktadır. Son zamanlarda KF'li hastalardan elde edilen *P.aeruginosa* suşları ile ilgili epidemiyolojik çalışmalarda genetik yöntemler uygulanmaktadır (3). Uzun süreli çalışmalardan elde edilen veriler çoğu hastada tüm izlem süresince aynı genotipin varolduğunu göstermektedir. Predominant genotipte değişiklik olmamaktadır (4, 10, 12). Ancak predominant genotip ile birlikte aynı zamanda geçici veya sabit diğer genotipler de izole edilebilmektedir (3, 7, 121, 122).

Solunum yolunda ayrıca *B.cepacia*, *S.maltophilia*, metisiline dirençli *S.aureus* ve atipik mikobakteriler de enfeksiyona neden olur (123). *Burkholderia* suşlarının çoğunda insandan

insana aktarılabilen doğal antibiyotik direnci vardır. *B.cepacia* ile oluşan infeksiyonlar, KF'li hastalarda akciğer fonksiyonlarındaki hızlı kötüleşme ve yüksek mortalite oranı ile ilişkilidir (124). Nadiren "cepacia sendromu" olarak isimlendirilen invaziv ölümcül bakteriyemiye yol açabilir.

Şekil 6. Kistik fibrozda solunum yolunda üreyen mikroorganizmaların yaşa göre dağılımı.



Aspergillus fumigatus invaziv infeksiyon oluşturmadan solunum yolunda kolonize olan bir etkindir. Bu mantara karşı allerjik bronkopulmoner aspergilloz (ABPA) olarak bilinen yoğun allerjik yanıt, coğrafi bölgelere bağlı olarak değişmekle birlikte KF'li hastaların % 1- 15'inde görülür (125, 126). ABPA'nın klinik bulguları hışıltı, akciğer infiltrasyonları ve santral bronşektazidir. Tanı için akut veya subakut klinik kötüleşme, total serum IgE düzeyinin 500 IU/mL'den yüksek olması, aspergillus karşı pozitif cilt testi ve aşağıdakilerden birisinin varlığı gerekir (125):

A.fumigatus'a karşı antikorların varlığı

Akciğer grafisi veya toraks bilgisayarlı tomografide standart antibiyotik tedavisi ile düzelmeyen infiltrasyon varlığı

2.4.2. Üst Solunum Yollarının Tutulumu

Kistik fibrozda yapışkan karakterdeki mukus nedeniyle, üst solunum yolu epitelinde mukosilyer temizleme mekanizması bozulur. Kistik fibrozda üst solunum yolları tutulumunun iyi tanımlanmış bulguları kronik rinosinüzit ve nazal poliptir (127). Nazal polipler burun boşluğunu döşeyen epitelden kaynaklanan selim yapılardır. Üzüm benzeri yapı şeklinde büyüyerek burun tıkanıklığına ve burunda şekil bozukluğuna yol açabilir. Nazal polipozis, kistik fibroz olmayan bireylerde % 5 oranında görülür (128). Kistik fibrozlu bireylerde nazal polipozis görülme oranı % 14- 45 olarak bildirilmiştir. (129, 130). Polip gelişme riski yaşla birlikte artmaktadır. Çok sık olmamakla birlikte nazal polipozis ile başvurduktan sonra kistik fibroz tanısı alan çocuk ve erişkinler bildirilmiştir.

En sık görülen semptomlar tek veya çift taraflı burun tıkanıklığı, burun akıntısı, baş ağrısı, anosmi, sabah öksürüğü ve ağız kokusudur (131, 132). Posterior farinkste kaldırım taşı görünümü ve adenoid hipertrofi görülebilir. Semptomların görülmemesi şikayetlerin kronik olmasıyla veya daha şiddetli olan akciğer ya da gastrointestinal semptomların gölgesinde kalmasıyla açıklanabilir. Endoskopik olarak nazal polipozis görülme sıklığı % 37- 56.5 olarak bildirilmiştir (133,134). Endoskopik muayene veya bilgisayarlı tomografide saptanan hastalığın şiddeti ile semptomlar arasında ilişki olmayabilir.

2.4.3. Pankreas Tutulumu

KF'li hastaların hemen hemen tamamı, egzokrin pankreas yetersizliğine ait semptomlar gösterir (81). Hastaların yaklaşık % 85- 90'ında doğumda veya hayatın ilk yılında ortaya çıkan pankreatik yetersizlik vardır. Bunlar yeterli yağ emilimini sağlamak için pankreatik enzim desteğine ihtiyaç duyar. Geri kalan % 10- 15 hastada ise yeterli fonksiyon olduğundan pankreatik enzim desteği gerekmez. Pankreatik yetersizliğe ait bulgular yağlı dışkılama, bağırsaklarda gaz birikimi, karında şişkinlik, yetersiz kilo alımıdır. Yağ emilim bozukluğuna bağlı olarak yağda eriyen vitaminlerin (A, D, E ve K) eksikliği görülür. Bu vitaminlerin eksikliğine ait bulgular akrodermatit, anemi, nöropati, gece körlüğü, osteoporoz ve kanama bozukluklarıdır.

Endokrin pankreas fonksiyon bozukluğunun, egzokrin pankreas hastalığının bir sonucu olarak geliştiği düşünülür. Beta hücrelerinin kaybı ve insülin sekresyonunun azalmasıyla diyabet ortaya çıkar. Çocuklarda diyabet görülme oranı % 2 iken, bu oran adölesanlarda % 19'a, erişkinlerde % 40'a ulaşmaktadır (135). Kistik fibroz ilişkili diyabette (KFİD) tipik olarak obezite yoktur ve kötü prognozla ilişkilidir (138). Daha önce KFİD tanısı olmayan çocuk ve adölesanlarla yapılan oral glikoz tolerans testinde, olguların % 43'ünde bozulmuş glukoz toleransı saptanmıştır (137). Bir başka çalışmada ise kadınlarda KFİD'nin daha kötü prognoza sahip olduğu gösterilmiştir (138). KFİD ile daha ciddi akciğer hastalığı, daha sık akciğer enfeksiyonu alevlenmesi ve kötü beslenme durumu arasında ilişki mevcuttur. Bu nedenle yaşa bakılmaksızın, açıklanamayan tartı kaybı ve akciğer fonksiyonlarında azalma olan hastalarda KFİD açısından değerlendirme yapılmalıdır. Glukagon gibi diğer hormonların düzenleyici etkisine bağlı olarak, ketoasidoz nadir görülür. Hiperozmolariteye bağlı organ komplikasyonları olan retinopati ve nöropati bazen görülebilir. Steroid kullanımı insülin gereksinimini kolaylaştırır. Diyabet varlığı kistik fibrozda prognoza olumsuz etki yapar.

2.4.4. Hepatobiliyer Tutulum

Kistik fibrozda karaciğer hastalığı koledok kanalının tıkanmasına bağlıdır. Hepatobiliyer hastalık görülme oranı % 10.8 olarak bildirilmiştir (105). Safra asitlerinin intestinal yoldan kaybı sonucunda safra tuzları azalır ve safra taşı oluşumu için uygun ortam oluşur. Bileşimi bozulmuş yapışkan özellikteki safra salgısı nedeniyle yenidoğanlarda kolestaz görülebilir. Kistik fibrozda ölüm nedenleri arasında akciğerden sonra ikinci sırayı % 4 ile karaciğer hastalıkları alır (37). Hastaların % 3-5 gibi küçük bir bölümünde fokal biliyer siroz ve portal hipertansiyon gelişebilir (87, 149). Karaciğer hastalığının klinik veya laboratuvar bulguları görüldüğünde ursodeoksikolik asit kullanılabilir, fakat uzun dönem faydaları konusunda henüz yeterli bilgi yoktur (140). Kistik fibrozda karaciğer naklinde oldukça önemli başarı sağlanmıştır (141).

2.4.5. İntestinal Tutulum

Bağırsakta bol miktarda bulunan KFTR proteininin yokluğunda bağırsakta obstrüksiyon gelişebilir. Bağırsak lümenine yetersiz sıvı sekrete edilmesi bağırsak içeriğinin koyulaşmasına neden olur. Bu durum yenidoğan döneminde % 15- 20 oranında görülen mekonyum ileusu olarak bilinir (81, 18). Mekonyum ileusunda karında şişlik ve genişlemiş bağırsak ansları görülür. Olguların yaklaşık yarısı bağırsak perforasyonu ve peritonit ile komplike olur. Hastaların yaklaşık % 20'sinde malnütrisyon, malabsorbsiyon, azalmış kas tonusu ve bol miktarda dışkılama sonucunda oluşan rektal prolapsus genellikle 6 ay- 3 yaş arası çocuklarda görülür. Bazen dışkının bağırsak duvarında yapışıklığa neden olmasıyla intusepsiyon görülebilir.

Hayatın daha sonraki döneminde bağırsak motilitesinin azalmasıyla distal intestinal obstrüksiyon sendromu (DİOS) veya kronik kabızlık gelişir (139). DİOS koyulaşmış bağırsak içeriğinin neden olduğu, distal ileum ve çekumda oluşan, aralıklı, kısmi veya tam obstrüksiyondur. Adölesan ve erişkin kistik fibrozlu hastaların % 15- 20'lik oranını etkileyebilmektedir (142). Karakteristik olarak kusma, karın ağrısı, karında şişlik ile birlikte sağ alt kadranda ele gelen kitleyle ortaya çıkar.

2.4.6. Sıvı-elektrolit Bozukluğu

Kistik fibrozlu sütçocukları, terleme veya hafif gastroenterit sırasında aşırı tuz ve su kaybı nedeniyle, hipokloremi ve metabolik alkalozun eşlik ettiği hiponatremik dehidratasyon gelişimine eğilimlidir (143). Tuz ve su kaybı sonucu olan sekonder hiperaldosteronizm, böbrek yoluyla hidrojen ve potasyum kaybına yol açar. Böylece metabolik alkaloz daha belirgin hale gelir. Biyokimyasal olarak Bartter sendromunu taklit eden fakat böbrekle ilgili herhangi bir sorunun olmadığı bu tabloya pseudo Bartter sendromu adı verilir (144). Bu ataklar özellikle sıcak ve kuru iklimlere sahip bölgelerde görülür (145). KF'li olguların değerlendirildiği iki farklı çalışmada, hiponatremik metabolik alkaloz tablosu ile başvuru oranı % 12 ve % 16.8 saptanmıştır (146, 147). Terde aşırı tuz kaybı, hastanın öpülmesi ile

tuzlu tat alınması ile fark edilir. Aileler özellikle sıcak mevsimlerde hastaya su ve tuz desteği verilmesi açısından bilgilendirilmelidir.

2.4.7. Genitoüriner Sistem Tutulumu

Kistik fibrozlu erkeklerin hemen hemen hepsinde konjenital bilateral vas deferens yokluğuna (KBVDY) bağlı azospermi ve infertilite görölür. Hayatın erken dönemlerinde koyu sekresyonlarla tıkanan vas deferens kaybolur. KFTR mutasyonu taşıyan bir erkekte, kistik fibroza ait diğer bulgular olmadan sadece KBVDY olabilir (148, 149). Kadınlarda servikal mukus koyulaşıır ve menstrüel siklusun ortasında sekresyon incelmediği için fertilite bozukluğu olabilir. Bununla birlikte birçok kadın gebe kalabilir, akciğer fonksiyonları iyi ve yeterli kilo alımı var ise sağlıklı bir bebek doğurabilir (150).

2.4.8. Kas-iskelet Sistemi Tutulumu

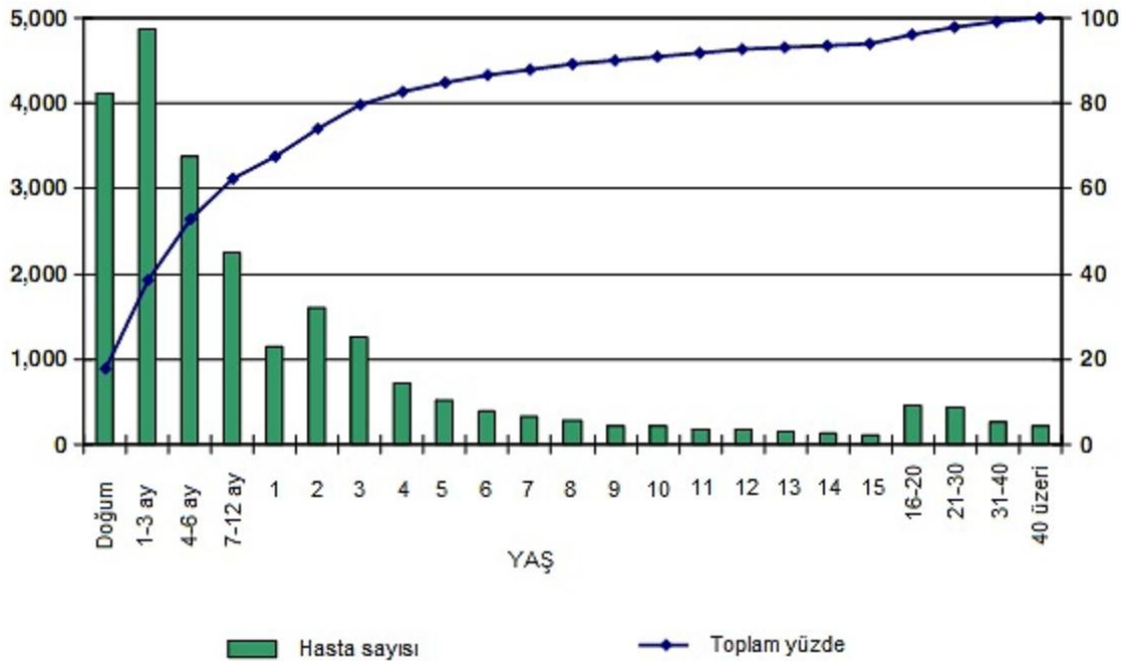
El ve ayak parmaklarında çomaklaşma, KF’de kronik akciğer infeksiyonunun bir bulgusu olarak görölür. Kistik fibrozlu hastaların yaklaşık % 15’inde, femur distal $\frac{1}{3}$ ’ü, tibia, fibula, radius, ulna ve humerusta hipertrofik pulmoner osteoartropati gelişir. Hastaların % 10’dan azında özellikle diz ve dirsek olmak üzere, elbileği, el, omuz ve kalça ekleminde tekrarlayan artrit görölür. Ataklar sırasında ateş ve eritem eşlik edebilir.

Yaşla birlikte görölme sıklığı artan osteopeni ve buna bağlı kırık riski yüksektir. Altta yatan mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte besinlerle yeteri miktarda kalsiyum ve D vitamini alınamaması, fiziksel aktivitenin azalması, hipogonadizm, kullanılan ilaçların (sistemik steroid) yan etkilerine bağlı olduğu düşünölmektedir. Çocuklarda yapılan çalışmalarda osteopeni sıklığının % 28- 47, osteoporoz sıklığının ise % 20- 34 olduğu gösterilmiştir (151).

2.5. TANI

KF tanısı, bir veya daha fazla hastalıkla ilişkili fenotipik özellik, KF tanılı kardeş öyküsü, yenidoğan tarama testi pozitifliği ve KFTR kanal disfonksiyonunu gösteren testler (terde klor düzeyi veya nazal potansiyel farkı) veya hastalığa yol açtığı bilinen iki mutasyonun gösterilmesi ile konulur (152). Terde klor düzeyi ölçümü, KF tanısının desteklenmesinde halen en önemli yöntemdir (152, 153). Birçok hastada tanı, hastalığı düşündüren tipik klinik bulgular ve bununla birlikte terde klor düzeyi yüksekliği ile kolaylıkla konulmaktadır. Böyle durumlarda genetik incelemelere ihtiyaç duyulmaz. Ancak tanıyı desteklemek, taşıyıcıları tesbit etmek ve prenatal tanı için genetik incelemeler faydalı olmaktadır. Ter testi normal veya şüpheli olup klinik bulguları olan hastalarda genetik incelemeler, KF tanısını destekleyebilmektedir (152- 154). Amerika Birleşik Devletleri'nde ortalama tanı yaşı 6 ay, ortalama ise 3.4 yaştır (Şekil 7) (105, 155). KF düşündüren bir veya daha fazla klinik bulgu ile birlikte ter testi yüksek olan hastalar tipik/klasik, ter testi normal veya şüpheli olan hastalar atipik/nonklasik KF olarak isimlendirilir.

Şekil 7. Amerika Birleşik Devletleri'nde kistik fibrozlu hastalara tanı konulma yaşı.



2.5.1. Ter Testi

KF tanısı için terde klor düzeyi ölçümü, 1959'da Gibson ve Cooke tarafından tanımlanan pilokarpin iyontoforez yöntemine göre yapılmaktadır (70). Bu yöntem ter salgısının toplanması için altın standarttır (152). Kurallarına uygun şekilde yapılan ter testi, kistik fibroz tanısında halen en ulaşılabilir ve en kullanışlı tanı yöntemidir (156).

Ter testinin uygulanması ve değerlendirilmesi sırasında "Clinical Laboratory Standards Institute" tarafından belirlenen koşullara uyulmalıdır (157) Ter bezleri; % 0.2- 0.5 pilokarpin nitrat içeren disklerle elektrotlarla beş dakika boyunca 1.5 miliamper akım verilerek, transdermal olarak uyarılır. Salgılanan ter filtre kağıdı ile (Gibson-Cooke yöntemi) en az 40 dakika, kapiler tüp ile (Macroduct) 20- 30 dakika boyunca toplanır. Minimum ter salgılanma hızı 1 gram/m²/dakika, ter miktarı Gibson-Cooke yönteminde en az 75 mg, kapiler tüp yönteminde ise en az 15 µL olmalıdır (156). İlk yöntemde klor konsantrasyonu ölçülürken, ikinci yöntemde dolaylı olarak elektriksel iletkenlik yöntemiyle klor düzeyi saptanır. Yüksek konsantrasyonda pilokarpin uygulanması veya aşırı ısıtma nedeniyle ter salgısı artar fakat elektrolit konsantrasyonu azalır. Ter salgısının toplanması sırasında buharlaşma nedeniyle terdeki elektrolit konsantrasyonu artacak ve ter toplanması daha uzun sürecektir. Bu nedenle kapiler tüp yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır.

Terdeki klor düzeyi Gibson-Cooke yönteminde; ≤ 39 mmol/L normal, 40- 59 mmol/L şüpheli, ≥ 60 mmol/L ise yüksek olarak kabul edilir (158). Altı aya kadar olan bebeklerde ≤ 29 mmol/L normal kabul edilir. Macroduct yönteminde klor düzeyi ≤ 74 mmol/L normal, 75- 89 mmol/L şüpheli, ≥ 90 mmol/L ise yüksek olarak kabul edilir (159). Sonucun ≤ 10 mmol/L veya ≥ 160 mmol/L olması testin hatalı yapıldığını gösterir. Tanıyı doğrulamak için ikinci ter testinin yapılması gereklidir. KF yenidoğan tarama testi pozitif olup asemptomatik olan bebeklerde, test için yeterli ter salgısı toplamak açısından bebeğin en az iki haftalık ve en az iki kilogram olması gerekir (160). Mekonyum ileusu gibi semptomatik olan bebeklerde yeterli miktarda ter toplanmışsa en erken 48 saate test uygulanabilir (156, 157). Yine de hatalı sonuçlar alınabileceği dikkate alınmalıdır. Ter testi değerlendirilirken yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlara yol açabilecek nedenler akılda tutulmalıdır (Tablo 4).

Tablo 4. Ter testinde yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlara yol açan nedenler.

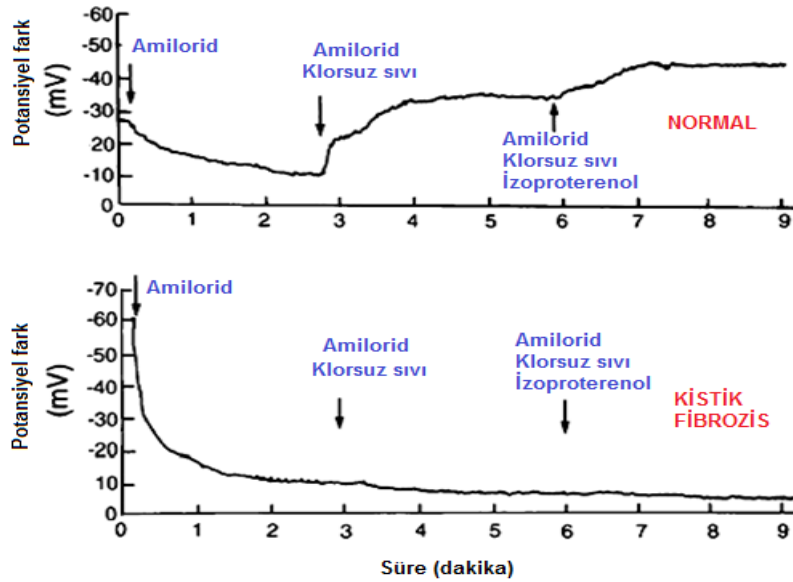
Yanlış pozitif	Yanlış negatif
Malnütrisyon	Malnütrisyon
Dehidratasyon	Dehidratasyon
Atopik dermatit	Periferik ödem
Ektodermal displazi	Hipokloremi
Anoreksiya nervosa	Hipoproteinemi
Fukosidoz	Sistemik steroid kullanımı
Klinefelter sendromu	Yetersiz ter toplanması
Nefrojenik diabetes insipidus	Toplanan terin dilüe olması
Glikoz 6 fosfat dehidrojenaz eksikliği	
Otonomik disfonksiyon	
Glikojen depo hastalığı	
Hipotiroidi	
Hipoparatiroidi	
Adrenal yetersizlik	
Pseudohipoaldosteronizm	
Konjenital adrenal hiperplazi	

2.5.2. Nazal Potansiyel Farkı Ölçümü

Solunum yolu epitelinde iyonların aktif transportu nedeniyle oluşan transepitelyal potansiyel farkın, nazal epitelden elektriksel ölçümüne dayanan bir testtir. Ter testi ve genetik inceleme ile tanı konulamamışsa başvurulur. Test sonuçları üst solunum yolu enfeksiyonu, mekanik travma, geçirilmiş burun veya sinüs cerrahisi, sigara kullanımı ve menstrüel siklustan etkilenmektedir.

Voltmetreye bağılı elektrotlardan birisi önkolda ciltaltına, diğeri de burun deliğinin tabanından ilerletilerek burun mukozasına yerleştirilir. Bazal potansiyel fark sağlıklı kişilerde – (15-25) milivolt iken, KF’de lümeniden aşırı sodyum geri emilimi nedeniyle – 40 milivolt veya daha negatiftir. Burun mukozasına epitelyal sodyum kanallarını inhibe etmek için amilorid, KFTR aracılığıyla klor sekresyonunu artırmak için izoproterenol verilmesi kistik fibrozlu hastada potansiyel fark değışikliğıne neden olmaz (Şekil 8) (161). Teknik olarak uygulanması zor olduğundan yaygın olarak kullanılmamaktadır.

Şekil 8. Normal ve kistik fibrozlu bireyde nazal potansiyel fark ölçümleri.



2.5.3. Mutasyon Analizi

KFTR fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olduğu düşünölen erkek infertilitesi, tekrarlayan pankreatit, kronik sinüzit ve sklerozan kolanjit hastalarının sayısı zamanla artmaktadır (148). Ter testi normal veya şüpheli sonuçlandığında KF tanısını koymak için genetik incelemeler kullanılabilir. KF’ye yol açtığı bilinen iki mutasyonun saptanması tanıyı doğrular. Bir mutasyon saptandığında klinik bulgularla birlikte değerlendirmek gerekir. Genetik inceleme sonucunda mutasyon saptanamaması kistik fibroz tanısını ekarte ettirmez.

2.5.4. Yenidoğan Taramaları

Pankreasta üretilen tripsinojenin kan düzeyi, KF'li hastalarda pankreatik kanalların tıkanmasıyla yükselir. Sağlıklı bebeklerde de tripsinojen yüksekliği olabilmekle birlikte birkaç hafta içinde normale dönmektedir. KF'de yenidoğan taraması, kanda immünoreaktif tripsinojen düzeyinin yüksek bulunmasına dayanır (160). Kan düzeyi pankreas fonksiyonlarından etkilenmez. Kistik fibroz yenidoğan tarama testi KF açısından riskli yenidoğanları belirlemeye yarar ve tanısal özelliği yoktur. ABD'de 2006 yılında yeni tanı alan kistik fibroz olgularının % 21.6'sına yenidoğan tarama programı sayesinde tanı konulmuştur (163). Tarama testinde yükseklik saptandığında çoğu merkez genetik incelemelere başvururken, bazı merkezler yaklaşık iki hafta sonra tekrar kan immünoreaktif tripsinojen düzeyini kontrol eder (164, 165). Her iki yöntemin de duyarlılığının % 90- 95 gibi yüksek olduğu gösterilmiştir (166, 167).

Yenidoğan tarama testi pozitif sonuçlandığında ter testi yapılmalıdır. Ter testi ≥ 60 mmol/L ise tanı doğrulanır. Ter testi normal bulunursa KF olasılığı düşüktür. Nadiren ter testi normal olup genetik inceleme ile iki gende mutasyon saptanan olgular bir merkez tarafından izlenmelidir. Ter testi şüpheli değerlerde bulunduğunda; genetik inceleme ile iki gende mutasyon bulunursa tanı doğrulanır. Tek gende mutasyon bulunursa klinik izlemle birlikte ikinci ve altıncı ayda ter testi tekrarlanır. Kontrolde ter testi yüksekse tanı doğrulanır, şüpheliyse izleme devam edilir, normalse tanı dışlanır (154).

Yenidoğan tarama programları ile uygun izlem şartları daha erken sağlanabilir. Buna bağlı olarak mortalite oranı, beslenme durumu ve hastaneye yatış sayısının olumlu yönde etkilendiği düşünülmektedir (168, 169).

2.5.5. Pankreas Fonksiyon Testleri

Egzokrin pankreas fonksiyonlarının değerlendirilmesi KF tanısında ve tedavinin yönlendirilmesinde yardımcı olmaktadır. 72 saat biriktirilen dışkıda tripsin, kimotripsin ve elastaz bakılması teknik zorluk, yüksek maliyet, duyarlılık ve özgüllüğünün düşük olması nedeniyle sık kullanılmaz. A, D ve E vitaminlerinin serum düzeyi, K vitamini eksikliğini

yansıtması açısından protrombin düzeyi kontrol edilebilir. Pankreas fonksiyonlarının değerlendirilmesinde 7- 8 yaşından büyük hastalarda serum tripsinojen düzeyi bakılabilir (170).

2.5.6. Prenatal Tanı

Amniyosentez veya koryon villus biyopsisi ile alınan fetüs hücrelerinden elde edilen DNA üzerinde moleküler genetik inceleme yapılır. Her iki ebeveynin KF mutasyonu taşıması halinde doğacak bebek % 25 olasılıkla hasta olacağı için prenatal tanı gereklidir. Ayrıca prenatal ultrasonografi ile bağırsakta ekojenite artışı saptanan bebeklerde KF açısından risk artışı olduğundan prenatal tanı yapılabilir.

2.5.7. Mikrobiyolojik Testler

Balgam, bronkoalveoler lavaj sıvısı veya orofarenks sürüntü kültüründe, KF için tipik olan *S.aureus*, tiplendirilmemiş *H.influenzae*, mukoid veya mukoid olmayan *P.aeruginosa*, *S.maltophilia* ve *B.cepacia* gibi patojenlerin üretilmiş olması tanıyı destekler (152). Altı aydan daha uzun bir süredir en az bir ay aralıklarla alınmış, en az 3 kültürde *P.aeruginosa* üretilmesi kronik Pseudomonas kolonizasyonu olarak tanımlanmıştır (41).

2.5.8. Görüntüleme Yöntemleri

Özellikle atipik olgularda tanının desteklenmesinde görüntüleme yöntemleri yardımcı olmaktadır. KF’de akciğer tutulumunun en önemli bulgularından biri olan bronşektazinin saptanması KF tanısını destekler. Bronşektazinin dışında hiperaerasyon, atelektazi ve infiltrasyonlar saptanabilir.

Düz akciğer grafisinde sütçocukluğu döneminde havalanma artışı ve diyaframda düzleşme görülebilir. Mukus plaklarına bağlı nodüler opasite ve bronşektaziye bağlı kistik değişiklikler izlenebilir. Akciğer hastalığının durumunu değerlendirmek için akciğer grafisini kullanan çeşitli skorlama sistemleri vardır. Bronşektaziye ait erken değişiklikleri saptamada düz grafi yetersizdir. KF Vakfı'nın (Cystic Fibrosis Foundation) önerisine göre hastaların izlemi sırasında her iki yılda bir, sık akciğer enfeksiyonu geçiren veya solunum fonksiyon testlerinde düşüş gözlenen hastalarda yılda bir akciğer grafisi kontrol edilmelidir (171). Pnömotoraks, ABPA ya da açıklanamayan akciğer semptomları olan hastalar dışında sık akciğer grafisi istenmemelidir. Son zamanlarda akciğer patolojilerinin değerlendirilmesinde manyetik rezonans görüntüleme yöntemlerinin kullanılabilirliğine dair çalışmalar yapılmaktadır. Fakat bilgisayarlı tomografi halen en iyi görüntüleme yöntemidir (172).

KF'deki paranazal sinüs hastalıkları tanısında bilgisayarlı tomografi, direk grafiye kıyasla kemik ve yumuşak doku hakkında daha detaylı bilgi verir. Burun boşluğu lateral duvarında çıkıntı saptanması önemli bir bulgudur (131, 132, 173, 174). Ayrıca paranazal sinüslerde aplazi veya hipoplazi sıkça görülmektedir (173). Endoskopik yöntemle burun ve paranazal sinüslere ait patolojiler saptanabilmektedir (131, 132).

2.5.9. Solunum Fonksiyon Testi

KF'li hastalarda akciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için başlıca yöntem solunum fonksiyon testleridir. Belirli aralıklarla yapılan ölçümler havayolu obstrüksiyonu veya hava hapsi hakkında bilgi sağlar. Bunların dışında akciğer alevlenmesi ve tedavi sonrası akciğer fonksiyonlarındaki akut değişiklikler ölçülebilir.

Zorlu ekspiryum ortası akım (FEF 25- 75) gibi ekspiryumun efora bağımlı olmayan kısmında düşüş, obstrüktif akciğer hastalığının erken dönem bulgusudur. Hava hapsi nedeniyle rezidüel volümün total akciğer volümüne oranı artmış bulunur. Altı yaş ve altı yaştan büyük hastalarda rezidüel fonksiyonlar ölçülebilir. Rezidüel fonksiyon sağkalımın güçlü bir belirleyicisidir (175- 176).

KF'li hastalarda akciğer fonksiyonlarını değerlendirmede en sık kullanılan parametre FEV 1'dir (110, 175). Birinci saniye zorlu ekspiryum volümünde (FEV1) oluşan değişiklikler obstrüktif akciğer hastalığı gelişeceğine işaret eder.

Bir çalışmada FEV 1 değerlerindeki düşüş ile mortalite arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (187).

Test için teknik olarak erişim kolaylığı, tekrarlanabilir olması ve belirli referans aralıklarının bulunması nedeniyle akıma duyarlı spirometreler kullanılır (178).

2.5.10. Üreme Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

Püberte sonrası dönemdeki KF'li erkeklerde görülen en önemli fenotipik özellik obstrüktif azospermi, olguların tamamına yakınına etkilemektedir. Atipik KF'li erkek hastalarda, püberte sonrası dönemde yapılacak ürolojik değerlendirmeler tanıyı destekleyebilir. Konjenital bilateral vas deferens yokluğunda yapılacak semen analizinde, pH düşük ($pH < 7$), sitrik asit yüksek (sitrik asit > 2000 mg/dL), asit fosfataz yüksek (asit fosfataz $> 760-1140$ mμ/mL), fruktoz düşük (30- 80 mg/dL) ve koagülasyon yetersizliği saptanır (179).

2.6. TEDAVİ

Multisistemik bir hastalık olan KF'nin tedavisine bütüncül bir yaklaşım gerekmektedir. Başlıca ilgi alanı kistik fibroz olan hekim, hemşire, diyetisyen, solunum fizyoterapisti ve psikolog işbirliği içinde olmalıdır. Hastalar 1-3 ay aralıklarla kontrol edilmeli, yeni tanı almış sütçocukları ve ciddi hastalık bulguları olanlar daha sık kontrole çağrılmalıdır. Hafif hastalık bulguları olan veya atipik kistik fibroz olguları ise 3- 6 ay aralıklarla kontrol edilebilir. Her kontrol sırasında fizik muayene, tartı ve boy ölçümleri, solunum fonksiyon testi ve balgam/orofarenks sürüntü kültürü yapılmalıdır (180). Ayrıca hastalara bakım veren merkezin gastroenteroloji, endokrinoloji, kulak-burun-boğaz, pediyatrik cerrahi, radyoloji, jinekoloji, nefroloji, romatoloji ve oftalmoloji birimleri ile yakın ilişki kurabilecek koşullarda olması gerekir. KF'de tedavinin temelini beslenme desteği, antibiyotik tedavisi, psikososyal destek ve fizyoterapi oluşturur (180, 181). İnhalasyon tedavisi, solunum yolu temizliği ve fiziksel egzersiz fizyoterapinin içinde değerlendirilir. Hasta ve ailesinin eğitimi tedavi başarısı açısından önemlidir. Amaç hayat kalitesini artırmak ve beklenen yaşam süresini uzatmaktır.

Hastaların rutin aşılamaları uygun zamanda tamamlanmalıdır. Özellikle solunum sistemiyle ilgili komplikasyonlara yol açabilecek boğmaca, kızamık, suçiçeği, H.influenza tip b ve S.pneumoniae etkenlerine karşı aşılamaya dikkat edilmelidir. Bazı uzmanlar yıllık influenza aşısının hasta ile birlikte aile bireylerine de yapılmasını önermektedir. Yılda en az bir kez kan sayımı, üre, AST, ALT, elektrolitler, albümin, protrombin zamanı, eritrosit sedimentasyon hızı, C reaktif protein kontrol edilmelidir (180). KFİD gelişimi açısından on yaşından büyük hastalar, yıllık kan şekeri veya oral glikoz tolerans testi ile izlenmelidir (17, 180).

2.6.1. Antibiyotik

2.6.1.1. Akciğer Alevlenmesinde Tedavi

Akciğer infeksiyonları için antibiyotik kullanımında, belirli aralıklarla alınan solunum yolu örneklerinde üretilen patojenlerin antibiyotik duyarlılığına dikkat edilmelidir. KF'li hastalarda geniş dağılım hacmi ve birçok antibiyotik için renal klirensin yüksek olması nedeniyle, pik serum konsantrasyonuna ulaşmak için yüksek antibiyotik dozları gerekmektedir (183). Akciğer alevlenmesinde direnç gelişimini önlemek amacıyla ikili antibiyotik kombinasyonu, hastanede 14- 21 gün süreyle intravenöz uygulanır (184). Tedavinin evde tamamlanması iyi eğitilmiş aile varlığında ve uygun koşullarda sözkonusu olabilir (185).

KF'nin erken döneminde başlıca etken olan *H.influenzae* ve metisiline duyarlı *S.aureus* için, birinci veya ikinci kuşak sefalosporinler ya da penisilin ile beta laktamaz inhibitörü kombinasyonu seçilebilir (186). Bu etkenlere karşı profilaktik antibiyotik kullanımı, non fermentatif gram negatif çomakların (*P.aeruginosa*, *S.maltophilia*, *A.xylosoxidans*, *B.cepacia*) daha erken kolonize olmasına yol açtığı için tartışmalıdır (187, 188). Metisiline dirençli *S.aureus* için vankomisin seçilebilir.

İlk kez saptanan *P.aeruginosa*'ya karşı uygulanan hızlı ve etkin antibiyotik tedavisiyle kronik kolonizasyonun geciktirildiği gösterilmiştir (116, 189, 190). Son on yıl içinde *P.aeruginosa* sıklığının azalması erken eradikasyon uygulamasının sonucu olarak görülmektedir (191). Duyarlı *P.aeruginosa* ile oluşan akciğer alevlenmelerinde öncelikli antibiyotik seçimi, antipsedomonal penisilin (seftazidim, piperasilin, tikarsilin) veya karbapenem (imipenem,

meropenem, aztreonam) ile aminoglikozit (tobramisin, amikasin) kombinasyonudur. Bu seçenek sinerjistik etki ve yavaş direnç gelişimini sağlar. *B.cepacia* için meropenem ile birlikte uygun bir antibiyotiğin (minosiklin, amikasin, seftazidim, kloramfenikol, trimetoprim-sülfometoksazol) birlikte verilmesi önerilir. *S.maltophilia* için tikarsilin-klavulanat, trimetoprim-sülfometoksazol veya tikarsilin-klavulanat ve aztreonam kombinasyonu seçilebilir. *A.xylosoxidans* varlığında ise kloramfenikol ve minosiklin ya da siprofloksasin ile karbapenem kombinasyonu tercih edilebilir. Aminoglikozitlerde uzamış postantibiyotik etkiden dolayı bakterisidal aktivite pik serum konsantrasyonuna bağlıdır. Ototoksisite ve nefrotoksisitede artış görülmediği için günde tek doz şeklinde uygulama önerilmektedir.

2.6.1.2. Akciğer Enfeksiyonunun Önlenmesi

Akciğer hastalığının uzun süreli yönetiminde en etkili araçlardan birisi inhale antibiyotik kullanımıdır. Bu şekilde solunum yolundaki enfeksiyon alanına, sistemik etkilerini en aza indirerek yüksek konsantrasyonda ilaç verilmesi mümkün olmaktadır. Birçok inhale antibiyotiğin kullanım amacı, en sık etken olan *P.aeruginosa* ile oluşan enfeksiyonları önlemektir. İnhalasyon için hazırlanan tobramisin içeren TOBI (Novartis Pharmaceuticals, Basel, Switzerland) ABD Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration-FDA) tarafından onaylanmıştır. İnhal tobramisin kullanımının akciğer fonksiyonlarını düzelttiği, balgamdaki *P.aeruginosa* yoğunluğunu ve hastaneye yatışı azalttığı gösterilmiştir (192, 193). *P.aeruginosa* kolonizasyonu olan altı yaş üzerindeki hastalarda günde iki defa 300 mg, 28 günlük periyodlarda dönüşümlü olarak kullanılmaktadır (194). Yapılan bir çalışmada altı ay ile altı yaş arasındaki çocuklarda inhale tobramisin kullanımının etkili ve güvenli olduğu gösterilmiştir (195).

İnhalasyon şeklinde kullanılan diğer antibiyotik aztreonam içeren Cayston (Gilead Sciences, Foster City, CA, USA) 2010 yılında FDA tarafından onaylanmıştır. *P.aeruginosa* kolonizasyonu olan yedi yaş üzerindeki hastalarda günde üç defa 75 mg, 28 günlük periyodlarda dönüşümlü olarak kullanılmaktadır. Kullanımda olduğu kısa süre içinde solunum yolu semptomlarını azalttığı, akciğer fonksiyonlarında iyileşmeye neden olduğu gösterilmiştir (196, 197). Polimiksin grubu antibiyotik olan kolistin in inhalasyon tedavisi ile inhale tobramisin tedavisi karşılaştırıldığında, balgamdaki *P.aeruginosa* yükünde azalma açısından

fark olmadığı, fakat akciğer fonksiyonlarındaki düzelmenin inhale tobramisin kullananlarda daha iyi olduğu gösterilmiştir (198). İnhalasyon şeklinde uygulanması için geliştirilen diğer antibiyotikler amikasin, siprofloksasin, levofloksasin ve fosfomisin ile tobramisin kombinasyonudur.

KF'de antipsödomonal etkinliğe sahip oral kullanılabilen antibiyotik siprofloksasindir. KF'li hastalardan elde edilen *P.aeruginosa* suşlarında siprofloksasin direnci % 30'lara ulaştığı için oral kullanılması düşünüldüğünde (günde iki defa 15-20 mg/kg) iki hafta süreyle inhale tobramisin veya kolistin tedavisine eklenmelidir (199). İnhal kolistin ve oral siprofloksasin kullanımıyla ilgili 15 yıllık bir izleme dayanan çalışmada hastaların % 80'inin kronik *P.aeruginosa* kolonizasyonundan korunduğu gösterilmiştir (26).

Kronik *P.aeruginosa* kolonizasyonunda kullanılabilecek diğer antibiyotik makrolidlerdir. Haftada üç gün oral azitromisin kullanımının akciğer fonksiyonlarında iyileşme, tartı alımında artış ve akciğer alevlenmesinde azalma sağladığı gösterilmiştir (200- 202). Makrolid antibiyotiklerin bu etkisinin, antibakteriyel etkisinden çok antiinflamatuvar etkisine bağlı olduğu düşünülmüştür (203, 204). Ayrıca toplumdan kazanılmış pnömoni etkeni *Mycoplasma*'dan korur. Azitromisin tedavisinin (günde bir kez 500 mg $\geq$ 40 kg, günde bir kez 250 mg 25- 40 kg) haftada üç gün, altı ay süreyle kullanılması önerilir.

KF'de hastadan hastaya bulaşabilen metisiline dirençli *S.aureus*, *B.cepacia* ve çoklu ilaca dirençli *P.aeruginosa* tanımlanması nedeniyle infeksiyon kontrolü için öneriler bildirilmiştir. Bu patojenleri taşıyan hastalara yönelik temas ve damlacık izolasyonu, çalışanlar için eldiven ve önlük giyilmesi önerilmiştir (205).

2.6.2. Solunum Yolu Temizliği

Solunum yolu temizliği için hastanın koyu ve bol miktarda olan sekresyonlarını çıkarma çabası desteklenmelidir. Bunun için göğüs duvarına perküsyon, vibrasyon, ossilasyon gibi çeşitli tekniklerle fizyoterapi uygulanır. Etkili olabilmesi için günde en az iki kez, akciğer alevlenmesi döneminde dört kez yapılmalıdır. İşlemi kolaylaştırmak için beta agonist ve mukolitikler verilebilir. İpratropiyum gibi antikolinergikler solunum yolu sekresyonlarını kurutacağı için kullanılmamalıdır.

KF'nin en önemli özelliklerinden birisi koyu ve yapışkan mukusun oluşturduğu tıkaçlardır. Solunum yolu sekresyonlarında parçalanmış nötrofillerden açığa çıkan DNA mukusun yapışkan özelliğe olmasını sağlar. Rekombinan DNA teknolojisi ile KF için üretilen Pulmozyme (dornaz alfa/deoksiribonükleaz) (Genentech, San Francisco, CA, USA) sekresyonları daha akışkan hale getirir. Zorlu vital kapasitesi (FVC) % 40 ve üzerinde olan hastalarda, günde bir kez kullanılarak en az yan etkiyle akciğer fonksiyonlarını düzeltir ve akciğer alevlenmesini azaltır (206, 207). Hipertonik (% 7 NaCl) tuz çözeltisinin günde iki kez 4 mL inhalasyonunun solunum yolu hidrasyonunda etkili olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (208- 210).

Solunum yolu hidrasyonunda kullanımı için klinik çalışmaları devam eden iki ilaç denüfosol ve mannitoldür. Denüfosol tetrasodyum solunum yolu epitelinde alternatif klor kanallarını aktive ederken sodyum emilimini inhibe eder. Ayrıca goblet hücrelerinde mukus salınımını, siliyer hareketleri ve tip 2 alveoler hücrelerden surfaktan salınımını artırır (211). Böylelikle solunum yolundaki sekresyonların temizlenmesi kolaylaşır. Kuru toz olarak uygulanan inhale manitol osmotik özelliği nedeniyle solunum yoluna suyu çekerek, sekresyonların temizlenmesini ve akciğer fonksiyonlarının iyileşmesini sağlar (212).

Mukolitik olarak kullanılan N asetil sisteinin aynı zamanda KFTR kanallarının iletkenliğini artırdığı ve solunum yolu sekresyonlarının hidrasyonuna katkıda bulunduğu bildirilmiştir (213).

2.6.3. Bronkodilatatör

Solunum yolu lümeni sadece sekresyonlarla değil mukozal ödem, düz kas hipertrofisi ve bronkokonstrüksiyon nedeniyle de daralır. Bronkodilatatör tedavi bazı hastalarda paradoksal olarak akciğer fonksiyonlarında azalmaya neden olsa da solunum yolu düz kaslarını dilate etmek için kullanılabilir.

KF'li hastalarda astımdan farklı olarak bronşiyal hiperreaktivitenin birçok sebebi vardır. Kısa etkili inhale bronkodilatatör tedaviye yanıt kistik fibrozlu hastalar arasında değişkenlik göstermektedir (214, 215). Hastaların % 50- 60'ında FEV1 değerlerinde iyileşme görülürken, % 10- 20 hastada akciğer fonksiyonlarında azalma görülür. % 20- 30 hastada ise herhangi bir değişiklik olmaz (215).

2.6.4. Antiinflamatuvar

KF'de antiinflamatuvar tedavilerin belirgin faydaları olduğu bilinmesine rağmen, ciddi yan etkileri nedeniyle kullanımları sınırlıdır (194, 216- 218). İki ay süreyle inhale steroid tedavisi verilen hastalarda adrenal fonksiyonlar ve solunum yolu patojenlerinde değişiklik olmaksızın alt solunum yolu nötrofil sayısında azalma saptanmıştır (219).

İbuprofenin antiinflamatuvar etkisini akciğere nötrofil göçünü azaltarak yaptığı düşünülmektedir (220). Antiinflamatuvar olarak yüksek doz oral ibuprofen kullanımını plasebo kontrollü değerlendiren bir çalışmada, özellikle 5- 12 yaş grubu hastalarda akciğer fonksiyonlarında kötüleşmeyi yavaşlattığı bildirilmiştir (221). Bir diğer çalışmada ibuprofenin FEV1 değerleri üzerindeki etkisinde plaseboya göre anlamlı bir fark görülmemiş, fakat hastanede yatış süresi daha az bulunmuştur (222). Retrospektif olarak yapılan bir değerlendirmede ise gastrointestinal yan etkiler nedeniyle tedavinin bırakıldığı belirtilmiştir (223). İbuprofenin optimal dozda nötrofil fonksiyonuna etkisi az, yüksek dozda etkili ancak yan etkisi fazladır. İbuprofen tedavisi sırasında ilaç düzeyi takibi gerekir ve gastrointestinal kanama riski artmıştır (224). Lökotrien reseptör antagonisti olan montelukastın eozinofilik inflamasyonu azalttığı gösterilmiş, ancak bunun klinik etkisi tam olarak belirlenememiştir (225).

2.6.5. Beslenme Desteği

Beslenme desteğinde en önemli iki hedef yeterli büyümeyi sağlamak ve besinsel eksikliklerin ortaya çıkmasını önlemektir. KF'de akciğer hastalığının düzeyi ile beslenme durumu arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (226, 227). Ayrıca akciğer fonksiyonları ve oksijen/karbondioksit düzeyinden bağımsız olarak, beslenme durumunun mortalitenin iyi bir belirteci olduğu bildirilmiştir (228). Hastaların beslenme durumunun izlenmesinde yaşa göre VKİ persantilleri, boya göre tartı ölçümlerinden daha hassastır.

2.6.5.1. Pankreatik Enzim Desteği

Yağ ve yağda eriyen vitaminlerin malabsorbsiyonunun önlenmesi için pankreatik enzim tedavisi kullanılmalıdır (229). Pankreasta bikarbonat sekresyonu azaldığı için, özellikle proteaz ve lipaz enzimlerinin optimal aktivitesi için gereken duodenum pH'sı düşer. Kullanılması gereken pankreatik enzim dozu alınan gıdaların içeriğine bağılı olarak değişmektedir. Pankreatik enzimlerin aşırı dozda kullanılması özellikle çocuklarda, terminal ileum veya kolonda fibrozan kolonopati olarak adlandırılan kalınlaşma ve striktüre neden olabilir. Bu nedenle günlük lipaz dozunun 10.000 ünite/kilogram'ı aşmaması, başlangıç dozunun üst sınırın $\frac{1}{4}$ ile $\frac{1}{3}$ 'ü arasında olması önerilmiştir (230, 231). Yüksek dozlara çıkılmasına rağmen malabsorbsiyonun devam ettiği hastalarda, duodenum pH'sını yükseltmek için proton pompa inhibitörü veya histamin H2 reseptör antagonistleri kullanılabilir.

2.6.5.2. Vitamin Desteği

Pankreatik yetersizliği olan KF'li hastalarda yağda eriyen vitamin desteği verilmesi önerilmektedir (45). Tablo 5'te KF için yaşa göre alınması gereken vitamin dozları gösterilmiştir. D vitamini ciltte ultraviyole ışınları ile sentezlenir, karaciğerde ve böbrekte hidrosillenerek biyolojik olarak aktif formu olan 1,25 (OH)₂ D vitamini oluşur (250). Aktif D vitamininin kalsiyum metabolizması ve kemik mineralizasyonu dışında immün sistem, malignite, tip 1 diyabet, otoimmün hastalıklar ve kalp hastalıkları üzerine de etkisi olduğu gösterilmiştir (236- 238). Geniş bir yaş grubunu içeren çok sayıda KF hastasıyla yapılan çalışmada serum 25 OH D vitamini düzeyi ile FEV1 değeri arasında doğrusal ilişki gösterilmiştir (235).

KF'li hastalarda D vitamini eksikliğinin egzokrin pankreas yetersizliği dışındaki diğer sebepleri; karaciğerde D vitamini hidrosilasyonun azalması, güneş ışığına maruziyetin azalması, D vitamini bağlayıcı proteinin azalması, D vitaminini depolayan yağ dokusunun azalmasıdır (151). Kistik fibrozlu hastalarda D vitamini düzeyinin normal sınırlarda tutulması için günlük 400- 2000 IU D vitamini verilmelidir (236). D vitamini eksikliğinin egzokrin

pankreas yetersizliğine bağlı yağ malabsorbsiyonu nedeniyle geliştiği bilindiğinden, emilimi daha kolay olan ergokalsiferolün kullanımı önerilmektedir (237).

Uzun süreli günlük vitamin desteği uygulanan hastalarda vitamin eksikliği veya toksisitesinin belirlenebilmesi için serum düzeyinin izlenmesi gerekir. D vitamini düzeyini gösteren en önemli parametre 25 OH D vitamini düzeyidir. D vitamini eksikliğinde kalsiyum ve fosfor düzeyinde oluşan değişiklikler, parathormonun aracılığıyla 1,25 (OH)₂ D vitamini düzeyinin artmasına yol açar (232). Bu nedenle 1,25 (OH)₂ D vitamini düzeyi ölçümü faydasızdır.

Tablo 5. KF’de Yağde Eriyen Vitaminler için Önerilen Günlük Dozlar (229,236,237)

	<u>Vitamin</u>			
Yaş grubu	A*	D#	E*	K*
0-12 ay	1.500 IU	400 IU	40-50 IU	0.3-0.5 mg
1-3 yaş	5.000 IU	400-800 IU	80-150 IU	0.3-0.5 mg
4-8 yaş	5.000-10.000 IU	400-800 IU	100-200 IU	0.3-0.5 mg
> 8 yaş	10.000 IU	400-800 IU	200-400 IU	0.3-0.5 mg
Erişkin	10.000 IU	400-800 IU	200-400 IU	0.3-0.5 mg

*Serum düzeyleri normale vermeye gerek yok, # yeterli güneş ışığı alan kimselerde gerek yok

2.6.6. Akciğer Transplantasyonu

Son dönem akciğer hastalığı olan KF’li hastalarda uygulanabilecek son tedavi yöntemi akciğer transplantasyonudur. Oldukça yüksek riskli bu uygulama için, hangi hastanın seçileceğine karar vermek zordur. Transplantasyon sonrası beş yıllık sağkalım oranı çocuklarda % 50’den azdır (238). FEV1 değeri % 30’un altında olan erişkinler transplantasyon adayıdır. Ayrıca yaş, cinsiyet, akciğerdeki bakteriyel kolonizasyon ve FEV1 düşüş hızı da bu kararı etkilemektedir. Uyku sırasında hipoventilasyonu olan ya da

transplantasyonu bekleyen hastalara, invaziv olmayan ventilasyon uygulaması semptomları rahatlatılabilir (239).

2.7. PROGNOZ

KF ilişkili ölümlerin yaklaşık % 82'sinden akciğer hastalığı sorumludur. Diğer nedenler ise karaciğer hastalığı (% 4), travma (% 3) ve transplantasyon ile ilişkili (% 6) olanlardır (37). Ortalama yaşam beklenti süresi özellikle son 20 yılda önemli bir artış göstererek 35.9 yıl olmuştur (240).

2.8 KİSTİK FİBROZİS VE *P.AERUGINOSA*

2.8.1. *P.aeruginosa*

2.8.1.1 Tanım

P.aeruginosa'yı ilk olarak 1882'de Gessard izole etmiş ve tanımlamıştır. *Bacillus pyocyneus* adını vermiştir. *P.aeruginosa* aerob, nonfermentatif, hareketli, spor oluşturmeyen, yaygın görülen gram negatif, bir bakteridir (241).

P.aeruginosa çevrede sık rastlanan, insanlarda ölümle sonuçlanabilen solunum sistemi, idrar yolu, yanık, cilt, kan akımı infeksiyonlarına yol açan; fırsatçı infeksiyonlara neden olan bir bakteridir (60-62, 242, 243- 248). Ayrıca KF'de akciğer patolojisinde rol alan başlıca patojendir (242, 247, 248).

P.aeruginosa kaynaklı nozokomiyal infeksiyonların eradikasyonu birçok faktör nedeniyle zordur. En önemli sorun çeşitli direnç mekanizmaları ile antibiyotiklerin *P.aeruginosa*'ya etkinliklerinin azalmasıdır. *P.aeruginosa*, antimikrobiyal tedavi altında hızlı çoklu ilaç direnci geliştirerek tedaviyi zorlaştırmaktadır (46, 199, 242, 247, 248).

Çalışmalar geniş ve esnek genom yapısının stresli çevre koşullarına uyum sağlamasını ve bu koşullarda yaşamasını kolaylaştırmaktadır. (45).

2.8.1.2 Virulans Faktörleri

Plasmid veya kromozomal genler tarafından kodlanan, lasB (elastaz), toxA (ekzotoksin-A), pilA (fimbria, öncü tip IV pilin), plcH (hemolitik fosfolipaz C öncüsü), phzA1 (fenazin biosentez proteini), toxR (transkripsiyonel düzenleyici), and lecA (lektin) gibi birçok virulans faktörü tanımlanmıştır (249- 257).

P.aeruginosa; KF akciğerinin koşullarına uyum aşamasında akut virulansını azaltmakta, KF akciğerinde sürekliliğini Psl, Pel ve alginat polsakaritlerinden oluşan biyofilm yapımı ile kuvvetlendirmektedir (257- 262).

Biyofilm oluşumu, farklı özellikte bakteri topluluğunun gelişimi için besin ve atık ürünleri sağlamaktadır. Bu yapının ortadan kalkması ve farklı yapıda bakteri populasyon sayısının azalması, *P.aeruginosa*'nın antibiyotik duyarlılığında değişikliğe yol açabilmektedir (257, 263- 267). Biyofilm oluşumu *P.aeruginosa* infeksiyonlarında kritik bir bileşendir (260, 268). Ayrıca biyofilm oluşumu *P.aeruginosa*'nın KF akciğerine uyum için geliştirdiği, klinik açıdan önemli bir yoldur (269).

Psl üretimi erken kolonizasyon aşamalarında, alginat ise geç kolonizasyon aşamasında immun yanıtıdan korunmada önemli rol oynamaktadır. Bakterilerin, aggregat olmaları ve biyofilm oluşumunu başlatmaları infeksiyonun erken aşamasında fayda sağlamaktadır. Yangının yüksek seviyeye ulaştığı infeksiyonun geç aşamasında; alginat yapısı, nötrofillerin akışına ve artmış oksidatif moleküllere karşı dirençte KF'li hastalarda bulunan mukoid suşlara üstünlük sağlamaktadır (270-273).

Mukoidisite ile tanımlanan aşırı alginat yapımı, KF'de *P.aeruginosa* kaynaklı infeksiyonların en önemli virulans faktörüdür (118, 274, 275). Alginat aşırı yapımı, en sık, antisigma-faktörünü kodlayan mucA geninde mutasyondan kaynaklanmaktadır. Mukoid olmayan *P.aeruginosa*'da, MucA alternatif sigma faktör AlgT'yi (AlgU olarak da bilinir) membrana hapsederek, alginat operonunu da içeren kendi transkripsiyon düzenleyecisini aktive etmesini engeller (272, 276). Mukoid *P.aeruginosa*'da ise; hapsedilmeyen AlgT, alginat sentez yolağının aktivasyonuna yol açarak biyofilm oluşumuna, antibiyotik direncine, fagaositozdan kaçınmaya, toksik oksijen radikallerinden temizlenmeye yardımcı olur (118, 274, 276, 277). Mukoid fenotip, MucR tarafından üretilen artmış siklik-GMP'ye bağlıdır, bu durum mukoid dönüşümün diğer fenotiplerle ikinci haberciler aracılığıyla bağlantı kurduğunu göstermektedir (278). Kurdele-heliks faktörü AmrZ, AlgT düzenleyicisinin bir üyesidir. AmrZ, alginat üretimini ve seğirme hareketini aktive ederken, flagella üretimi için gerekli temel genleri baskılar (279- 281).

Çoğu mukoid olmayan *P.aeruginosa* suşlarında biyofilm oluşumu Psl ekzopolisakkaritine bağlıdır. Psl, yapışmayı ve hücre-hücre etkileşimini düzenlemektedir (261, 262, 270, 282). KF'li hastaların akciğerleri gibi duyarlı dokuların kolonizasyonu; biyofilm oluşumunu başlatan ve konak savunma yanıtına dayanabilen agregasyon bileşenlerinin varlığını gerektirmektedir. Psl, yapışma ve agregasyon fonksiyonları ile bu süreçte önemli bir rol oynamaktadır. Yeni çalışmalar, Psl'nin immun yanıtta da etkili olduğunu bildirmektedir (283, 284).

Mukoid olmayan *P.aeruginosa* suşları ilk önce KF hastalarının akciğerlerini enfekte etmekte, daha sonra Psl ile yapışma ve agregasyon kuvvetlenmektedir. Psl, primer biyofilm-ilişkili kolonizasyonda görev almaktadır (261, 262, 270, 277, 282, 283, 285-291). Mukoid dönüşüm oluştuktan sonra AlgT-duyarlı transkripsiyon faktörü AmrZ, psl operonunun transkripsiyonunu baskılamakta, alginat operonunun transkripsiyonunu ise aktive etmektedir (282, 287). Psl ile alginat birbirlerinin tersine üretilmektedirler. Bu veriler, mukoid suşlarda aşırı derecede üretilen AlgT, AlgB, AlgR ve AmrZ gibi transkripsiyon faktörlerinin bazı ortak düzenleyici mekanizmalarla kontrol edildiklerini göstermektedir. Psl'nin mukoid suşlarda düşük düzeyde üretilmesinin AlgT bağımlı olduğu yeni çalışmalarla desteklenmiştir (281, 282, 287-290).

AmrZ, psl üretiminin düzenleyicisidir. Psl baskılanması için AmrZ'nin DNA'ya bağlanması gerekmektedir. AmrZ, psl operonunun AlgT-bağımlı baskılanmasından sorumlu düzenleyicidir. AmrZ, AlgD'nin aktivatörü, pslA'nın baskılayıcısıdır. AlgD mutasyona uğratıldığında da Psl düzeyleri artmamaktadır. AmrZ'nin, AlgD ve pslA promotörlerine bağlanma yerleri ve affiniteleri birbirlerinden farklıdır. Mukoid suşlarda, AlgD promotörünün aktivitesi AmrZ'ye ek olarak diğer düzenleyicilerinin bağlanmasından da etkilenmektedir (279, 291, 292). Bu düzenleyiciler ise AlgD üretimini desteklerken, pslA promotörüne etki etmemektedirler.

KF'de infeksiyonun erken aşamasında yangı düşük seviyededir. Yangının yüksek seviyeye ulaştığı geç dönemde, nötrofil aracılı oksidatif hasar ile mucA mutasyona uğramakta. MucA mutasyonu ise alginat üretimini başlatmaktadır. Alginat üretimi başladıktan sonra Psl bazal seviyede üretilmektedir (273).

2.8.1.3. Genetik Özellikleri

2.8.1.3.1 Genom Yapısı

P.aeruginosa'nın geniş ve esnek genom yapısı, stresli çevre koşullarına uyum sağlamasını ve bu koşullarda yaşamasını kolaylaştırmaktadır (45, 253, 293-304). Wolfgang ve ark, *P.aeruginosa*'nın bakteriler arasında en fazla düzenleyici gene sahip bakteri olduğunu belirtmişlerdir (305).

Mutasyon ve homolog rekombinasyon oranlarındaki artışın *P.aeruginosa*'nın değişen çevre koşullarına hızlı uyumunda yardımcı olduğu, *P.aeruginosa* topluluğundaki genom değişiminin mutasyondan daha sıklıkla rekombinasyondan kaynaklandığı bildirilmektedir (297, 306-308).

P.aeruginosa genomu, korunan çekiredek genom ile değişken ve esnek yardımcı genom bölgelerinden oluşmaktadır. Bu değişken, esnek genom bölgeleri (genom plastisite bölgeleri; GPB) de; genom adalarını ve genom adacıklarını içermektedirler (45, 308- 309, 311-316). GPB'nin kaybı veya kazanımı klonlar arası genom farklılıklarına yol açmaktadır (45, 46, 64, 307, 308, 311-316).

P.aeruginosa'da genom boyutunda 5.2-7Mb arasında değişen farklılıklara neden olan genomik yeniden düzenlemeler, DNA blok kayıpları ve kazanımları gerçekleşebilmektedir (45, 294-304, 310). *P.aeruginosa* kromozmunda; tRNA genlerinin geniş DNA bloklarına integre olmak ve DNA bloklarını eksize etmek için belirledikleri sıcak noktaları içeren, lipH, phnAB, pilA lokuslarına yakın, üç adet aşırı değişken bölge bulunmaktadır (293, 294, 295, 311- 316).

Genom adaları, yatay gen aktarımı ile kazanılırlar. Bakterinin yaşam şekline sağladıkları faydalarına ve kodladıkları fonksiyonlara göre; patojenite, simbiyozis, metabolik ve direnç adaları olarak da adlandırılırlar (317-321). *P.aeruginosa* kromozomunda çok sayıda genom adalarının varlığı belirtilmiştir. Bu genom adaları bazı suşlarında farklı sayıda bulunurken, diğer suşlarında bulunmamaktadır (322).

Bakteriyel patojeniteye, kromozomal ve patojenite adalarında bulunan gen gruplarının çeşitli şekilde etkileşimleri ile kodlanan çeşitli virulans faktörleri yol açmaktadır (252, 253, 323, 324). *P.aeruginosa* kolonize olmak, tahrip etmek, dokular arasında yayılmak için bazı virulans genleri bulundurmaktadır. Espinosa ve ark, virulans genlerinin tüm suşlarda bulunduğunu ve çekirdek genomun bir parçasını oluşturduklarını göstermişlerdir (46). Tüm *P.aeruginosa* suşlarının izole edildikleri örneklerden ve yerlerden bağımsız olarak farklı virulans genlerini taşıdıkları değişik çalışmalarla da desteklenmiştir (255, 305).

Daha önceki çalışmalarda vurgulandığı gibi, genomik ada insersiyonlarının çoğunluğu kromozomdaki özgül bölgelerde gerçekleşmektedir ve herbir suşta ancak bir veya iki genomik ada insersiyonu görülmektedir. Bu çalışmalar genomik adaların suşa ve bölgeye özgül olduğunu desteklemektedir. Ancak Espinosa ve ark.'nın çalışmasında; bir suşun kromozomunda 7 genomik ada taşıyabildiği, her bir genomik ada sıklığının tüm incelenen suşlarda eşit olduğu gösterilmiş ve bu bulgu kromozomda henüz gösterilememiş farklı insersiyon bölgelerinin varlığını düşündürmüştür.

P.aeruginosa topluluğunda genomik ada sıklığını ve bir *P.aeruginosa* suşunda genomik ada sıklığını inceleyen çalışmalar bildirilmektedir (64, 315, 316, 325).

Bakteri virulansına ve uyum özelliğine herbir genomik adanın etkisi çok az bilinmektedir. Bu genomik adalarca kodlanan proteinlerin çoğunluğunun bilinmeyen fonksiyonları bulunmakta, ayrıca bu proteinler DNA mobilizasyonu, integrasyonu, konjugasyonu ve bölünme fonksiyonlarını kodlayan genleri etkilemektedirler (293, 313).

P.aeruginosa'nın KF akciğerinde karşılaştığı oksidatif strese ve kısıtlı demir miktarına rağmen yaşamını sürdürmesine katkı sağlayan sitokrom c biyogenez I sistemi ve tio-disüfit değiş-tokuş sistemi için gerekli temel 9 proteini kodlayan gen kümesi PAGI-2'dir (64, 274, 326, 327). PAPI-1, ise KF'li hastalarda kronik infeksiyon ile ilişkili antibiyotik dirençli *P.aeruginosa* suşlarının biyofilm oluşumunu kontrol eden düzenleyici genleri taşımaktadır (293, 328-332). Şu an için hangi genomik adanın, ne şekilde ve derecede etkili olduğu açık değildir.

2.8.1.3.2 Tip 3 Sekresyon Sistemi

Akut *P.aeruginosa* infeksiyonunun patogenezi fonksiyonel tip 3 salgılama sistemine (T3SS) dayanmaktadır (331,332). T3SS, konak hücre savunmasını ve iletişimini yıkmak için, efektör proteinleri (ExoU, ExoS, ExoT, Exo Y) hedef hücrenin içine taşıyan karmaşık salgılama ve yer değiştirme makinesini kullanmaktadır (333, 334). Hızlı hücre ölümünde ve fagositozdan kaçışta etkilidir (335). ExoS, sıkı hücre kavşaklarını bozar, antifagositik özelliği vardır, infeksiyon gelişimi için gereklidir. Daha sitotoksik olan exoU ise akut infeksiyon ve KF olmayanlarda virulans göstergesidir (332,336).

ExoS genotipi exoU genotipine göre daha yaygındır. Bir çalışmada klinik ve çevresel toplam 115 suşun % 72'sinin exoS genotipinde, % 28'inin exoU genotipinde olduğu; ExoU+ *P.aeruginosa* suşlarının, solunum yolu örneklerinde, kan ve yara örneklerine oranla daha az saptandığı bildirilmektedir (337). ExoU+ *P.aeruginosa* suşları; ciddi seyirle, kötü prognozla,

yoğun bakım gereksinimi ile ilişkilendirilmektedir (310, 338, 339, 340, 341). Araştırmacılar bunun nedenini; ExoU geninin güçlü bir sitotoksini kodlaması ve bu sitotoksinin de kronik enfeksiyonlarla bağdaşmaması ile açıklamaktadırlar (342). ExoS genotipi ise, ExoU genotipinin aksine KF izolatları ile ilişkili bulunmuştur (341).

Erişkin KF'li ve ergen KF'li çocuk hastalarla yapılan çalışmalar, bu hastalarda kronik enfeksiyona yol açan *P.aeruginosa* bu suşlarının exoS+/exoU (exoS+) genotipinde olduklarını ve zaman içerisinde salgılama fonksiyonlarını kaybettiklerini göstermiştir (64, 337, 343-348). Ancak T3SS'nin, KF'li süt çocuklarında ve KF'li çocuklarda *P.aeruginosa* ile gelişen erken akciğer enfeksiyonlarındaki etkisi bilinmemektedir. Hu ve ark tarafından, yenidoğan döneminin hemen ardından KF tanısı alan çocukları yaşamlarının ilk yılında enfekte eden *P.aeruginosa* izolatları, T3SS genotipleri ve fenotipleri açısından incelenmiş, izolatların T3SS genotipleri ile hastaların klinik bulguları arasındaki ilişki araştırılmıştır. T3SS genotipi ile cinsiyet, yaş, izolasyon alanı, alevlenme ve suş persistansı arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir. ExoS+ veya ExoU+ kazanımından 5 yıl sonra, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, exoS+ taşıyan çocuklarda tahmin edilebilir FEV1 yüzdesi ExoU+ taşıyanlara göre daha düşük ölçülmüştür (349).

2.8.1.3.3 'PKLC102-benzer' Genom Adası

PKLC yağ asit sentaz, PKL-1, pKL-3, pKLC adezyon proteini, pKLC korunmuş proteini kodlayan genlerin ait olduğu; 'pKLC102-benzer' genom adasına ait genlerle enfeksiyon tipleri arasında (KF ve KF olmayan) ilişki olduğu gösterilmektedir. Bu beş genin; KF suşlarında, kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalardan elde edilen suşlarda yaygın olarak bulunduğu bildirilmektedir (64, 343). PAPI-1/ 'pKLC102-benzer' genom adalarındaki genler; sitotoksin, pili, fimbria, biyofilm sentezi düzenleyicisi ve antibiyotik direnci gibi virulans faktörlerini kodlarlar (328).

2.8.1.4 Direnç

2.8.1.4.1 Temel Özellikler

P.aeruginosa, farklı genomik (filogenetik) alt soylardan oluşmaktadır; ancak bu alt soyların antimikrobiyal dirençlerindeki farklılıklar veya çoklu ilaç direnç geliştirebilme güçleri açık değildir (61, 350-355). Filogenetik olarak farklı alt soylara ait, duyarlı *P.aeruginosa* suşları, klinik açıdan önemli birçok antimikrobiyale direnç geliştirmede benzer güce sahiptirler. Antimikrobiyal tedavi altında hızlı, çoklu ilaç direnci geliştirerek tedaviyi zorlaştırmaktadır (45, 242, 247, 345).

Çalışmalar ilaç direncine iki temel mekanizmanın yol açtığını göstermektedir. Bunlar kromozomal direnç-ilişkili genlerde intrinsik değişiklikler ya da diğer bakterilerden direnç etkenlerinin kazanılmasıdır (355). Yatay kazanılan direnç; çok çeşitli antibiyotik-hidrolize edici enzimleri kodlayan, hareketli, genetik unsurlarla ilgilidir. Kromozom kaynaklı mutasyonal direnç mekanizmaları ise; ilaç inaktive edici enzim üretiminde artış, hedef genlerde mutasyon oluşturma, dış membran porin fonksiyonunu devre dışı bırakma, dışa-atım pompalarında aşırı üretimdir (356).

Çoklu ilaç dirençli *P.aeruginosa* sıklığı Asya ülkeleri arasında farklılık göstermektedir. Japonya'da % 1.62 iken; Hindistan'da % 4.49 ve İran'da % 5.46'ya ulaşmaktadır (357- 359). Avrupa'da % 4.7 iken, ABD'de % 10 oranı ile daha sıktır (360, 361). Tüm çalışmaların ortak sonucu, çoklu ilaç dirençli suşların en sık solunum yollarından elde edildiğidir (356-361).

Çoklu ilaç direnci olan *P.aeruginosa* ile yapılan çalışmalarda; IMP, VIM, SPM ve GIM gibi birkaç metallo-β-laktamaz (MBL) tanımlanmıştır (362). Tayvan'da kazanılmış β-laktamaz genleri incelendiğinde, çoklu ilaç dirençli izolatlarda en sık saptananın tip blaVIM-3, Brezilya'da *P.aeruginosa* suşlarında ise blaSPM-1 ve blaIMP-1 olduğu gösterilmiştir (356, 363-365). Ancak Avrupa'da veya ABD'de çoklu ilaç dirençli *P.aeruginosa* veya karbapenem dirençli *P.aeruginosa* gelişiminde MBL üretimi esas direnç mekanizması olmadığı bildirilmiştir. (366-368).

2.8.1.4.2 Genişletilmiş-spektrumlu β -laktamaz (GSBL)

Genişletilmiş-spektrumlu β -laktamaz (GSBL) PER-1, Ambler sınıflamasına göre sınıf A β -laktamaz'dır. İlk olarak Fransa'da bir Türk hastadan üretilen *P.aeruginosa* izolatında 1991'de tanımlanmıştır (369). Türkiye'de yapılan ulusal araştırmalar, PER-1 enziminin hastanede yatan hastalardan üretilen çoklu ilaç dirençli *P.aeruginosa* izolatlarında yaygın olduğunu; sıklıkla OXA-tip GSBL'ye veya VIM-2 metallo- β -laktamaz (MBL)'a eşlik ettiğini göstermektedir (370, 371). PER-1; Fransa, Belçika, İtalya, Polonya gibi Türkiye'ye komşuluğu olmayan Avrupa ülkelerinden ve Asya bölgelerinden de bildirilmiştir (372-377). Yunanistan'da; *P.aeruginosa* izolatlarında blaSHV-5, blaIBC-2 ve blaGES-13 gibi diğer GSBL genleri saptanmışsa da, Türkiye'deki GSBL üreten *P.aeruginosa* izolatlarında saptanmış olan blaPER-1 geni yakın komşuluğa rağmen yakın zamana kadar henüz görülmemiştir (378-380). Ancak Ranellou ve ark.'ı, 2012'de, Yunanistan'da beş hastada blaPER-1 genini taşıyan 5 *P.aeruginosa* izolatını saptamışlardır (381).

2.8.1.4.3 Karbapenem Direnci

Karbapenem direnç gelişimi sıklıkla multifaktöriyeldir. İmipeneme ve geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı hidrolitik aktiviteye sahip bazı AmpC enzimlerinin aşırı ekspresyonu da, MBL'lerin yanında başka bir mekazima olarak açığa çıkarılmıştır (382). Ancak etkileri karbapenemler arasında farklılık gösterebilmektedir (383). AmpC aşırı ekspresyonunun, *P.aeruginosa* suşlarının karbapenem duyarlılığında değişikliğe tek başına yol açtığı söylenemez (355). *P.aeruginosa* porini (OprD), bazik aminoasitlerin ve karbapenemlerin hücre içine diffüzyonuna izin veren bir kanal olup; azalmış OprD ekspresyonu da karabapenem direncine yol açabilir (384, 385, 386). MexAB-OprM dışa atım pompasının da meropenem direncine katkısı bulunmakta ancak imipenem üzerinde böyle bir etkisi olmamaktadır (386).

Bazı çalışmalar karbapenem direncinde özellikle; mexAB aşırı ekspresyonu ile birlikte veya birlikte olmadan, azalmış oprD ekspresyonunun sorumlu olduğunu göstermektedir (355, 366, 386, 387). Shu ve ark.'nın çalışmasında; çoklu ilaç dirençli *P.aeruginosa* suşlarının % 27,6'sında MexAB aşırı ekspresyonu bulunduğu, MBL salgılayan suşların MBL salgılamayanlara göre daha az mexAB ve daha fazla oprD ekspresse ettiğini gösterilmiştir. Böylece MBL salgılamayanlarda daha fazla mexAB ve/veya daha az oprD ekspresyonunun MBL üretimindeki eksikliği kompanse ettiği desteklenmiştir (356).

OprD porinlerinde kaybın doripenem direncinde önemli olmadığı da görülmüştür (356). Ayrıca karbapeneme aşırı dirençli suşlarda, azalmış oprD ekspresyonu ile blaVIM birlikteliğinin gösterilmesi de bu iki mekanizmanın sinerjistik çalıştığı, birbirlerini kompanze ettikleri görüşünü kuvvetlendirmiştir (356). Ancak bu mekanizmanın doripenem direncine olası etkisini açıklamak için daha çok çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

P.aeruginosa ve karbapenem direnci ile ilgili diğer çalışmalarda; MBL üretmeyen *P.aeruginosa* suşlarının karbapenemlere düşük seviyede direnç gösterdikleri, blaVIM-2 bulunduran çoklu ilaç dirençli *P.aeruginosa* suşlarının imipeneme yüksek derecede dirençli oldukları bildirilmektedir (388, 389, 390).

Fransa’da, karbapeneme duyarlı olmayan 32 klinik suşun incelendiği çalışmada, tüm suşlarda oprD ekspresyonunun azaldığı ve 25 suшта ampC’nin aşırı üretildiği gözlemlenmiş, komşu bölgelerde de benzer sonuçlar elde edilmiştir (361, 381, 383). Avrupa’da karbapenem direncinin yaygın olarak azalmış oprD ekspresyonuna bağlı olmasının, düşük düzeyde karbapenem direnci ile sonuçlanmasına neden olduğu belirtilmiştir (356).

MBL’nin dünyada sıklığı artmaktadır (390). KF’li hastalardan elde edilen *P.aeruginosa* suşlarında MBL varlığı ile ilgili veriler çok az olmakla birlikte, karbapenem sıklığının düşük olduğu belirtilmektedir (390, 391, 392). Ancak KF’li hastaların *P.aeruginosa* suşlarında karbapenem direncinin sadece yaygın MBL’lerin varlığına dayandırılmayacağı anlaşılmaktadır (390-392).

2.8.1.4.4 Florokinolon Direnci

P.aeruginosa’da florokinolon direnci; DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimleri ile genomun topolojik yapısının devamından sorumlu hedef gende, ‘kinolon direnci belirleyen bölge (QRDR)’de mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (306, 393- 395). Her iki enzim de sırasıyla gyrA, gyrB ve parC, parE genleri tarafından kodlanan iki alt-üniteden oluşmaktadır. DNA giraz, DNA’nın süpersarmal oluştrumasını katalizler. Topoizomeraz IV ise kırılmış yavru DNA parçalarını tekrar birleştirir. Florokinolonlar bu enzimlere bağlanırlar ve belirtilen reaksiyonun tamamlanmasını önlerler. Böylece çift zincirli DNA kırıklarına ve kesilmiş replikon çatallarına neden olurlar. GyrA, florokinolonların primer hedefidir (393-397). Diğer direnç mekanizmaları ise dışa atım pomplarının aşırı üretimi ve hücre duvarı geçirgenliğinin azalmış olmasıdır (398).

Bazı çalışmalarda, florokinolon dirençli *P.aeruginosa* suşları ile enfekte hastalarda mortalite ve uzamış hastalığın, dirençli olmayanlara göre 3 kat fazla olduğu gösterilmiştir (399).

Agnello ve ark tarafından, çeşitli örneklerden elde edilen 45 *P.aeruginosa* suşunda florokinolon direnci ve exoU TSS varlığı arasında anlamlı bir ilişki olduğu; Garey ve ark, kandan elde ettikleri *P.aeruginosa* suşlarından exoU+ olanlarda exoS+ olanlara göre çoklu ilaç direncinin daha sık olduğu sonucuna ulaşmışlardır (400, 401). Avrupa’da yapılmış başka bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (402). ExoU geni taşıyan suşlarda, gyrA ve par C genlerinde mutasyon olasılığının exoS+ suşlarına göre 2 kat daha fazla olduğu, ParC genindeki mutasyon tipinin de T3SS genotipine göre değiştiği bulunmuştur (403). Ayrıca SOS yanıtı ile indüklenen bir grup gen (Pol II, Pol IV, and PolV) ile hata eğilimli polimerazların kodlandığı, bu enzimler genomda hata birikimine yol açtığı saptanmıştır (404). Bu çalışmada; kinolon direncinde, T3SS’nin ve özellikle ExoU genotipinin, DNA ve topoizomerez IV enzimlerini kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonların, hata eğilimli polimerazların rol aldığı görülmektedir.

2.8.2 Kistik Fibrozis ve *P.aeruginosa* Kolonizasyonu

P.aeruginosa, KF’de akciğer hastalığının anahtar patojenidir (24). *P.aeruginosa* ile gelişen infeksiyonların neden olduğu akciğer fonksiyonlarında ilerleyici kayıp, morbiditede ve mortalitede artışla sonuçlanmaktadır. Kronik *P.aeruginosa* infeksiyonunun; sağkalım süresinde azalma, akciğer radyografi bulgularında kötüleşme, akciğer alevlenmeleri, kötü beslenme durumu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (36- 38).

Fonksiyon göstermeyen KFTR; havayolu yüzey sıvısının yapısını değiştirerek doğal bağışıklık yanıtında ve bakteriyel klirenste bozulmaya yol açabildiği gibi, direkt *P.aeruginosa*’ya bağlanarak, endobronşiyal infeksiyona zemin hazırlamaktadır (100, 101).

P.aeruginosa prevelansı yaşla birlikte artar. Pozitif solunum yolu kültür oranları sütçocuklarında %20- 30’a, 2- 10 yaş arası çocuklarda %30- 40’a, adölesanlarda % 60’a, erişkinlerde % 80’a ulaşmaktadır (405). Hu ve ark.’nın çalışmasında ilk *P.aeruginosa* izolasyon yaş ortalaması 27 ay olup, daha önceki çalışmalara benzerdir. Yakın zamanlı uzun süreli bir başka çalışmada tüm hastaların 3 yaşına ulaştıklarında *P.aeruginosa* ile enfekte oldukları bildirilmektedir (349).

Avrupa KF Birliği, *P.aeruginosa* ile kronik havayolu kolonizasyonunu; bronşiyal ağaçta en az 6 ay *P.aeruginosa* varlığı olarak tanımlamıştır. Direkt (inflammasyon, ateş vb.) veya indirekt (spesifik antikor varlığı) infeksiyon bulgularının ve doku hasarının eşlik etmediği, an az 1 ay ara ile alınmış 3 kültür pozitifliği bu tanımlama için gerekli kriterlerdir (41).

P.aeruginosa ile kolonizasyon yaşı hasta prognozunda önemli bir belirleyicidir (58). İlk *P.aeruginosa* enfeksiyonu yaşı üzerine KF genotipinin önemli bir etkisi bulunmaktadır (103, 406- 410). Ancak, *P.aeruginosa*'nın erken enfeksiyonu üzerine ağır KFTR mutasyonlarının (sınıf 1, 2, 3) etkisi hafif KFTR mutasyonlarına (sınıf 4, 5, 6) göre daha fazladır (24, 41). Sigara dumanı, sıcak buhar kullanımı, anne sütü ile beslenme gibi diğer risk faktörleri ile ilk *P.aeruginosa* enfeksiyonu yaşı arasında ise herhangi bir ilişki gösterilmemiştir (99, 102, 103, 410- 414). Collaco ver ark.'nın son çalışmasında ise; daha sıcak iklim bölgesinde yaşayan KF hastalarında *P.aeruginosa* ediniminin 9- 15 ay daha erken gerçekleşmekteği bildirilmektedir (99). İlk *P.aeruginosa* edinme yaşı, konak ve çevre koşulları arasındaki karmaşık etkileşimden etkilenmektedir (24).

KF'de *P.aeruginosa* ile gelişen akciğer hastalığı çok erken yaşta başlayabilir ve solunum yolu kültürlerinde sıklığı yaşla birlikte artmaktadır (35, 58). KF hastalarında *P.aeruginosa* enfeksiyonu, ilk başta genellikle geçicidir. Zamanla hastaların akciğerlerinde değişen koşullara uyum sağlayabilen mukoid suşların neden olduğu, bakterinin eradike edilemesinin mümkün olmadığı kronik enfeksiyona doğru ilerler (39, 40).

Rehberler, ilk *P.aeruginosa* enfeksiyonun saptanarak, bakterinin eradike edilmesinin kronik enfeksiyonun önlenmesi ve geciktirilmesi için çok önemli olduğunu vurgulamaktadırlar (26, 41- 44, 111, 115, 116, 119). Ranganathan ve ark, tartı ve boy persantil yüksekliğinin de anlamlı olarak kroyucu olduğunu bildirmişlerdir (102).

S.aureus, *S.maltophilia* ve *A.xylosoxidans* bakterilerinin izole edilmesi erken yaşta *P.aeruginosa* kolonizasyonu ile ilişkilidir. Daha önceki çalışmalar, *S.aureus*'un erken yaşta ilk *P.aeruginosa* kolonizasyonu için risk faktörü olduğunu, son çalışmalar ise daha büyük hastalarda mukoid *P.aeruginosa* enfeksiyonlarına karşı koruyucu olduğunu bildirmektedirler (103, 104, 188, 191, 406). Bu nedenle *S.aureus*'un *P.aeruginosa* enfeksiyonundaki rolü hala tartışmalıdır. *S.maltophilia* ve *A.xylosoxidans* ile erken *P.aeruginosa* kolonizasyonu arasında gözlenen ilişki, bu organizmaların daha yoğun antibiyotik tedavileri uygulanan dolayısıyla daha ciddi akciğer hastalığı olanlardan izole edilmesi ile açıklanabilir.

İnhalasyon tedavileri ile *P.aeruginosa* kolonizasyon yaşı arasında gösterilebilmiş bir ilişki yoktur (36, 406).

İlk kolonizasyon tipik olarak vahşi-tip fenotipik özellikler gösteren çevresel suşlarla olmaktadır (415, 416).

KF hastalarından elde edilen *P.aeruginosa* izolatlarının longitudinal olarak izlendiği ve genotipik özelliklerinin incelendiği çalışmalar; hastaların tek bir bakteriyel klonu taşıdıklarını

açığa çıkarmıştır. Bu klonlar ise uzun antibiyotik tedavisine, konak immun yanıtına uyum sağlamış ve türlerarası yarışı kazanmış klonlardır (65, 417).

P.aeruginosa'nın uyum süreci; mutasyon ve seleksiyon ile sabitleşmiş, çeşitlilik gösteren fenotiplerin oluşumuna yol açmaktadır. MucA ve lasR gibi genlerde sıklıkla fonksiyon kaybına yol açan mutasyonlar; alginat aşırı üretimi, azalmış virulans ve gelişmiş metabolik yapı ile karakterize uyum sürecine öncülük ederler (418, 419). Mukoid fenotipin oluşmasından sorumlu MucA mutasyonuna sahip suşlar enfeksiyonun erken döneminde seçilirler. Seçilen bu suşlarla mukoid fenotip bir kez oluştuktan sonra enfeksiyonun antibiyotiklerle tedavisi çok zordur ve kronik enfeksiyon gelişir (272). Alginat da kompleman aktivasyonunu inhibe ederek, nötrofil ve makrofaj fagositozunu azaltarak, serbest radikalleri uzaklaştırarak *P.aeruginosa*'yı yangının sonuçlarından korumaktadır (420-422). Kronik olarak enfekte hastaların balgamlarında yüksek miktarda alginat saptanmaktadır. Alginata karşı antikor yanıtında artış, KF hastalarının enfeksiyonlarında kötü prognozla ilişkilidir (423). Mukoid ve mukoid olmayan suşlar, KF hastalarının akciğerlerinde canlı kalabilmek için farklı uyum yollarını izlemektedirler. Mukoid suşlar, mukoid olmayanlara göre daha yüksek yapışma özelliği gösterirler. Mukoid ve mukoid olmayan suşların biyofilm yapıları birbirlerinden farklıdır. Mukoid suşlar, uzun süreli kronik akciğer enfeksiyonları sırasında iyi differansiye biyofilm oluşturma kabiliyetlerinin devam ettirirken; mukoid olmayan suşlar bu özelliklerini kaybederler ya da az differansiye gevşek yapıda biyofilm oluştururlar (424,425). Lee ve ark, mukoid ve mukoid olmayan suşların 10 yıllık kronik enfeksiyon sürecinde, genetik yapılarındaki değişim basamaklarını özetlemişlerdir. Erken dönem mukoid suşların gen yapıları ile geç dönem suşlarının gen yapıları büyük benzerlik göstermektedirler. Mukoid olmayan suşlar ise erken mukoid suşlardan çok farklı gen yapısına sahiptirler. On yıllık sürede mukoid suşlarda genotipik ve fenotipik özellikler değişmezken, mukoid olmayan suşlarda fenotipik ve genotipik özelliklerde büyük ve fazla sayıda değişiklik saptanmıştır.

Mukoid *P.aeruginosa* suşlarını çevreleyen kalın sümüksü madde, bakteriyi KF akciğerindeki çeşitli çevresel uyaranlardan koruyan bir mikroçevre oluşturur. Bu mikroçevre metabolik aktivitelerin değişmeden aynı kalmasını kolaylaştırır.

Transplante akciğer doku kesitlerinin immunohistokimyasal incelemelerinde, mukoid suşların fagositoza dirençli alginata-gömülü mikrokoloniler şeklinde üredikleri; mukoid olmayan suşların ise fagositoza duyarlı dağınık hücreler şeklinde üredikleri bildirilmiştir (425).

Konak savunmasına karşı devamlılık mukoid suşlarda devam ederken, mukoid olmayan suşlarda kaybolmuştur (426). Ayrıca KF havayolunda on yıllık uyum sürecinde suşların başlıca virulans etmenlerini kodlayan genlerini baskıladıkları gözlenmiştir (269)

İlginç olarak anaerobik solunumla ilgili nar operonunun üretiminin, geç dönem suşlarda arttığı gözlenmiş olup; bu veri KF balgam yapısının mikroaerofilik koşullarına uyum çabasını desteklemektedir (427, 428).

İn vivo çalışmalar KF hasta balgamlarının besinler açısından zengin olduğunu göstermektedir (429, 430). Glutamat dehidrogenazı kodlayan *gdhA* ve tiamin biyosentazı kodlayan *thiC* genlerinin ekspresyonunda artış, KF akciğerinde *P.aeruginosa*'nın besinleri kullandığını kanıtlamaktadır.

Bu bulgulara ek olarak; geç dönem suşlarda tip 6 salgı (T6SS) sisteminin bileşenlerini kodlayan genlerde baskılanma olduğu bulunmuştur. Kronik infeksiyonun geç dönemlerinde, immun sistemden saklanmak için; diğer sekresyon sistemleri (T3SS) gibi T6SS de kaybolmaktadır. Geç dönem izolatlarında ayrıca; Clp-proteazları'nın ekspresyonunda azalma ile protein parçalanma oranında azalma olmaktadır. Böylece balgamdaki nötrofillerin oluşturduğu oksidatif stres altında protein kaybı en aza indirgenmektedir (428, 432).

P.aeruginosa ile gelişen kronik solunum yolu infeksiyonlarının en önemli ayırıcı özelliği aşırı-değişken (hypermutable) suşların prevalansının akut infeksiyonlardan yüksek olmasıdır (308, 433-435). Bu varyantlar KF hastalarının % 30-60'ında bulunurlar ve defektif DNA tamir mekanizmaları nedeniyle 1000 kat artmış spontan mutasyon oranına sahiptirler. MutS ve mutL genlerindeki mutasyonlardan dolayı, uyumsuz tamir sistemi ('mismatch repair' (MMR)) sık etkilenir (307, 436, 437). Antibiyotik direnci, biyofilm oluşturma, metabolik uyum, akut virulansta azalma ile ilgili mutasyonların kazanımı sonucunda mutator varyantlar kronik infeksiyon gelişme aşamasında aslında pozitif seleksiyona uğrarlar (433, 437- 441).

2.8.2.1 Bulaşıcılık

KF'li hastalar arasında, kişiden kişiye *P.aeruginosa* bulaşması çok nadir görülmektedir.

İngiltere'de, Avustralya'da, Kanada'da, Danimarka'da son yıllarda epidemik suşlara rastlanması organizmanın hastadan-hastaya bulaşabileceğini vurgulamaktadır (53, 54, 56, 65, 67, 442-444).

Daha sonra yapılan çalışmalarda bazı epidemik suşların 'süperenfeksiyon'a yol açtığı (epidemik olmayan suşların yerine geçerek), KF olmayan akrabalara ve aile bireylerine bulaşabildiği, tedavi gereksinimini arttırdığı, kronik enfekte hastalarda morbiditeyi arttırdığı belirlenmiştir (56, 67, 445-450). Liverpool epidemik suşu (LES) gibi bulaşıcı *P.aeruginosa* suşları ile gerçekleşen enfeksiyonlar; akciğer fonksiyonlarında daha hızlı yıllık kayıpla, daha

kötü beslenme durumu ile, artmış ölüm ve akciğer transplantasyon oranları ile ilişkili olabilmektedir (56, 67, 445-449).

Hastadan hastaya bulaşı gösteren çeşitli çalışmalar bildirilmektedir. LES-1 gibi farklı coğrafik bölgelerden yüzlerce KF hastasını enfekte edebilen epidemik suşların varlığı son 2 dekaddır bildirilmekle birlikte mutator varyantların hastalararası yayılımı daha önce gösterilememiştir (56, 67, 445, 449-453).

Tüm genom sekanslama teknikleri ve diğer moleküler yöntemler ile yapılan yeni araştırmalar, mutasyonların ve bu mutasyonların sonucunda KF uyumlu epidemik suşların meydana geldiğini, mutant suşların da yayılım gösterdiğini açığa çıkarmıştır (454, 455, 456). Causape ve ark.'nın, 8 yılda, 10 KF hastasından elde edilen 10 suş ile yaptığı çalışmada; direncin zaman içinde biriktiği ve sıklıkla 6 hastadan elde edilen mutator varyantta gözlemlendiği belirtilmiş olup bir genotipin (klon FQSE-A) 4 hastada persistan enfeksiyon oluşturduğu görülmüştür. Detaylı incelemeler ile bu yeni genotipin; epidemik suştan gelişen mutS defektif mutator olduğu, özgül antibiyotik direnç mekanizmaları kazandıktan sonra hastalar arasında yayıldığı açığa çıkarılmıştır. Bu çalışma ile mutator suşların hastalar arasında yayılım gösterebildikleri, yeni sekans gelişimine yol açabildikleri ilk kez kanıtlanmıştır (457).

Yakın zamanda Avustralya KF merkezlerinin yaptığı ortak çalışmada; birçok paylaşılan ortak *P.aeruginosa* suş kümelerinin olduğu gösterilmiş, tek bir *P.aeruginosa* klonunun bir bireyde aylarca veya yıllarca kolonize olduğu, *P.aeruginosa* genotiplerinin yakın aileler arasında paylaşıldığı saptanmıştır (322, 452, 458).

KF hastaları arasında *P.aeruginosa* yayılımının olduğunu gösteren çalışmaların aksine; Kanada'da, kardeşler gibi uzun süreli ve yakın temaslı bireylerin araştırmaya alınmadığı, 174 kişi ile yapılan çalışmada; hastadan hastaya bulaşıcılık riskinin düşük olduğu gösterilmiştir (449). Benzer şekilde; Yeni Zelanda KF merkezlerinin ortak yaptığı çalışmada; 102 hastadan elde edilen 496 *P.aeruginosa* suşu genotiplendirilmiş ve ortak suşlar sadece birbiri ile temaslı 7 hastada gösterilebilmiştir (459).

Hollanda'dan ise; KF hastalarının tatil kamplarının *P.aeruginosa* yayılımı açısından anlamlı derecede riskli oldukları, özellikle iki *P.aeruginosa* genotipinin kolay bulaşabildiği, bu genotiplerden birinin Hollanda topluluğunda sık görülen genotip olduğu bildirilmiştir (59, 460).

Son Kuzey Amerika rehberleri, *P.aeruginosa* ile enfekte KF hastalarını takip eden sağlık kurumlarında standart korunma önlemlerinin alınmasını önerirken; Avrupa rehberleri *P.aeruginosa* ile kronik olarak enfekte olan hasta kliniklerinin ayrı olması gerektiğini vurgulamaktadırlar (100, 180).

KF hastalarının sıkı izolasyon yöntemleri ile ayrılması, psikososyal ve ekonomik konularda yeni sorunları beraberinde getirdiği için şu anda çok kabul görmemektedir. Ancak bu yöntemlerin *B.cepacia kompleks* gibi farklı birçok KF patojeninin yayılımını da engellediği unutulmamalıdır (461).

2.8.2.2 Moleküler Çalışmalar

2.8.2.2.1 PFGE ('pulsed field gel electrophoresis' - darbeli alan jel elektroforezi)

Mikrorganizmaların izolasyonu, tanımlanması ve kökenler arasındaki ilişkinin belirlenmesi infeksiyon hastalıklarının epidemiyolojisi oldukça önemlidir. Moleküler tiplendirme yöntemleri ile epidemiyolojik olarak ilişkili, aynı tür içindeki izolatların genetik olarak da ilişkili olup olmadıkları araştırılmaktadır. Genel olarak epidemiyolojik yönden ilişkili izolatlar ortak bir kaynaktan köken alır (462). Moleküler çalışmalar ile izolatlar epidemik, sporadik, endemik olarak ayrılabilir, salgınla ilişkili suşlar belirlenebilir; kaynak ve rezervuarı, yayılma yolları hakkında bilgi edinilir. Özellikle nozokomiyal patojen olan bakterilerin tiplendirilmesinde en iyi yöntemler kromozomal DNA polimorfizmine dayalı olanlardır. PFGE, bu yöntemlerden biridir.

PFGE; agaroz içine gömülü haldeki bakterilerden yapısal bütünlüğü bozulmadan izole edilen kromozomun, restriksiyon enzim profilinin belirlenmesi esasına dayanır. Geleneksel jel agarozdan farklı olarak, elektrik akımının yönü değiştirilerek, 40-50 kilobaz (kb)'dan daha büyük DNA parçalarının da göçü mümkün olmaktadır.

Halen birçok gram-pozitif ve gram-negatif bakteri ve mayaların tiplendirilmesinde altın standarttır. Diğer yöntemlere göre farklılığı; ayırım gücünün daha fazla ve tekrarlanabilir olmasıdır. Ancak zaman alıcıdır ve laboratuvarın kurulması pahalıdır (462). Klasik PFGE protokolleri 3-4 gün gibi uzun sürede sonuçlanmaktadır.

PFGE ile tiplendirilen izolatlar, Tenover ve ark. tarafından geliştirilmiş kriterler kullanılarak; ayırt edilemeyecek derecede benzer, yakın ilişkili, olası ilişkili ve ilişkisiz olarak değerlendirilirler (13).

Ayırt edilemeyecek derecede benzer izolatlar: Aynı sayı ve boyutlarda band içeren izolatlardır.

Yakın ilişkili izolatlar: Salgın suşu ile aralarında 2-3 band farkı (bir genetik olay) vardır. Salgınla ilişkili suşlardır.

Muhtemel ilişkili izolatlar: Salgın suşları ile aralarında 4-6 band farkı (iki genetik olay) vardır. Muhtemelen salgınla ilişkilidirler

İlişkisiz suşlar: Aralarında ≥ 7 band farkı (≥ 3 genetik olay) olan suşlar salgınla ilişkileri bulunmayan suşlardır (% 50'den daha az band ortaktır.)

2.8.2.2.2 Kistik Fibrozis Hastalarından İzole Edilen *P.aeruginosa* Suşlarının PFGE Yöntemi ile Moleküler Tiplendirilmesi

Şu anda KF hastalarındaki *P.aeruginosa* suşlarının genotipik çeşitliliği ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Kuzey İrlanda'da erişkin KF hastalarından elde edilen *P.aeruginosa* suşlarında yüksek oranda genetik çeşitlilik saptanmış olup, klonal suşa ait bir kanıt elde edilememiş, 2 yıl sonra ise Kakinuma ve ark, Kuzey İrlanda'da KF merkezinde erişkin hastaların balgamında 'Liverpool Epidemic Suşu (LES)'nu saptamışlardır (52, 67). Diğer çalışmalarda koloni şekilleri farklı olsa da çoğu suşun aynı genotipe ait olduğu ve *P.aeruginosa* fenotipi ile genotipi arasında ilişki olmadığı bildirilmektedir (68, 69).

Bir hastada birden fazla *P.aeruginosa* suşunun elde edildiği ve suşların PFGE ile incelendiği bir çalışmada hastaların % 76' sında (47/62) sadece 'pulsotype-1' genotipin varlığı gözlenmiş, antibiyotik duyarlılıkları literatürde daha önce belirtildiği gibi, bir hastanın aynı örnekteki suşları arasında ve zaman içinde farklılık göstermiştir (52, 269, 463-466).

Kanada ve Kuzey İrlanda'da saptanan LES suşunun daha hızlı akciğer fonksiyon kaybı, daha düşük vücut kitle indeksi, artmış ölüm riski ve akciğer transplantasyonu ile ilişkili olduğu, Avustralya'da saptanan 'pulsotype-1'in genç hastalarda daha ciddi hastalıkla, Avustralya Epidemik Suş III (AES III)'ün ise hastaneye yatış gerektiren daha fazla akciğer alevlenmeleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (15, 56, 67, 445, 449, 450).

KF hastalarında kronik *P.aeruginosa* enfeksiyonlarına yol açan izolatların fenotipik ve genotipik özelliklerini inceleyen çalışmaların çoğu enfeksiyonun birbiri takip eden birkaç yılına odaklanmış olup; diğer bir kısmı da erken, ara dönem ve geç dönem izolatlarını karşılaştırmışlardır (65, 336, 467-470).

Bazı araştırmacılar tarafından, KF hastalarının solunum yollarını kolonize eden *P.aeruginosa* suşlarını, ilk kolonizasyon geliştirdikleri 1980 ve 1970 yıllardan itibaren seriler halinde incelenmiş; birçok ender görülen klon ve birkaç yaygın görülen major klon saptanmıştır (64, 471). KF hastalarından kaynaklanan, kolay bulaşabilen bir klona ait henüz yeterli kanıt ulaşılamamıştır (65, 471, 472). Birçok KF merkezinde yapılan çalışmalara benzer şekilde

Exo-S klon C ve Exo-U+ klon PA14, KF havayollarında en çok bulunan klonlar olduğu saptanmıştır (64, 473,474).

Hanover'in serisinde; hastaların yarısından fazlasında, ilk kolonizasyon gerçekleşikten sonraki 30 yıl içerisinde aynı klonun varlığı gösterilmiş; ko-kolonizasyon, kolonizasyonun 2. ve 3. yıllarında pik yapmıştır. Kopenhag'daki klinikte ise ilk klonun medyan kolonizasyon süresi 8 yıl, yıllık ko-kolonizasyon sıklığı % 0- 20 arasında saptanmıştır. Bakteriler arası yarışın, Hanover grubunda kronik infeksiyonun başlangıç aşamasında, Kopenhag kliniğinde ise sürekli gerçekleştiği anlaşılmıştır. Konağın solunum yolu özelliklerinin (konak fenotipinin), aynı klona ait *P.aeruginosa*'nın suşları arasında genomik değişimde önemli rol oynamadığı görülmüştür. Antimikrobiyal tedavi, infeksiyon kontrol yöntemleri, konak fenotipleri arasındaki farklılıklar, bu iki klinik arasındaki birbiri ile uyumsuz epidemiyolojik sonuçlara neden olmuştur. Bu iki kohortta; aynı klona ait suşlar farklı konaklarda farklı, farklı klona ait suşlar da aynı konakta farklı davranmışlardır (308).

Özgül çoklu ilaç dirençli *P.aeruginosa* klonu ile infeksiyon için risk faktörlerini tanımlamak ve bu klonla enfekte hastaların prognozlarını belirlemek çok önemlidir (475).

Tektaş Çocuk Hastanesi'nde, 2004'te, KF hastalarından elde edilen çoklu ilaç dirençli *P.aeruginosa* suşları ile bir pilot çalışma başlatmış, çalışmada suşlar PCR yöntemi kullanılarak tiplendirilmiş. Çalışmanın sonucunda; endemik suşun (Houston-1) çoklu ilaç dirençli suşların yarısını oluşturduğu, Houston-1 grubu içinde antibiyotik duyarlılıklarında farklılıklar olduğu; çoğunluğunun 2 veya 3 gruba direnç gösterdiği bildirilmiştir. Her hastadan çalışma süresi boyunca (2004-2009) birçok dirençli suş toplanmış, moleküler profilleri karşılaştırılmış, Houston-1 grubundaki suşların moleküler profillerinde zaman içinde değişim olmadığı görülmüştür. Demografik ve klinik değişkenlerde farklılık gözlenmezken, hastanede yatış süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Özellikle yakın zamanda hastanede yatmış olmanın Houston-1 suşu ile infeksiyon için risk faktörü olduğu, diğer suşlar için ise tam tersi olduğu belirtilmiştir. Bu bulgular daha önce İngiltere'deki ve Avustralya'daki KF merkezlerinin verileri ile örtüştüğü, daha önce hastaneye yatırılmış olmanın epidemik suşlarla infeksiyon için risk faktörü olduğu vurgulanmıştır (54, 59).

2.8.2.3 KFTR Mutasyonu ve *P.aeruginosa* Genotipi

KFTR mutasyonu ile *P.aeruginosa* enfeksiyonu arasında ilişki olabileceği bazı çalışmalarda bildirilmektedir (476). Bazı araştırmacılar; hafif mutasyonların, düşük *P.aeruginosa* enfeksiyonu riski ile ilgili olduklarını düşünmektedirler (476, 477). Kubesch ve ark, KFTR genotipinin *P.aeruginosa* ile solunum yolu kolonizasyonunda etkili olduğunu, KFTR'nin mikroorganizma için epitelial reseptör görevi taşıdığını vurgulamaktadırlar (476, 477).

Aynı KFTR mutasyonunu taşıyan KF hastalarından elde edilen *P.aeruginosa* suşlarının arasında genotipik ilişki olup olmadığını bilinememektedir. Abdul Wahab ve ark, aynı mutasyonu taşıyan farklı ailelerin KF'li bireylerinde ve KF'li kardeşler arasında aynı genotiplerin varlığını göstermek amacıyla, 17 ailenin 27 KF'li bireyinden elde edilen 66 *P.aeruginosa* suşunu incelemiş, suşların kişiler arasında bulaşabileceğini veya ortak çevresel kaynaktan kazanılabileceğini göstermiştir. KF'li bireylerin kuzen olduğu yakın ailelerden elde edilen *P.aeruginosa* suşlarında da örtüşme olması, belirtilen aileler arasındaki sosyal aktiviteler sırasında gerçekleşen temasa bağlanmıştır (478).

2.8.2.4 *P.aeruginosa* Kolonizasyonu ve Bağışıklık Sistemi

Aynı tedavilere rağmen bazı hastalar *P.aeruginosa* ile çok erken yaşlarda kronik olarak kolonize olurken, diğerleri uzun süre kolonize olmazlar. Doğal bağışıklık sistemi, immün savunmada ilk basamaktır ve *P.aeruginosa* eradikasyonunda da önemli rol oynamaktadır. Doğal bağışıklık sistemi geniş çeşitlilikte patojene karşı koruyucudur ve sınırlı sayıda tanımlama reseptör repertuarına (pattern recognition receptors (PRR)) sahiptir. Bu reseptörler (MBL2, FCN, Toll-like reseptörler), hücreler tarafından ekspresse edilen proteinler olup, mikrobiyolojik bileşenleri tanırlar. Bu mikrobiyolojik bileşenler de; patojen-ilişkili moleküler kalıplar (pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)) olarak tanımlanırlar (479). MBL2 ve MASP2 polimorfizmlerinin, *P.aeruginosa* kazanımına yatkınlık oluşturuyor olabileceği belirtilmektedir (480- 485). Erken yaşta kronik *P.aeruginosa* kolonizasyonu ile FCN1 ve FCN2 varyantları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu, genç hastalarda normal FCN2'nin *P.aeruginosa* eradikasyonunda rolünün daha önemli olduğu bildirilmektedir. Daha büyük hastalarda ise kronik *P.aeruginosa* ile kolonizasyon riskine doğal bağışıklık dışında başka faktörler de etki etmektedir (486). MBL2 polimorfizminin KF hastalığında farklı klinik bulgulara yol açan modifiye edici gen olduğuna dair bulgular hala tam anlaşılmış değildir (477, 480-484). MBL mukoid *P.aeruginosa*'ya bağlanabildiğinden, MBL2 yetersizliği

olanların bu suşlarla enfeksiyona duyarlı olabilecekleri sonucu da çıkarılabilir (487, 488). Son olarak; daha nadir saptanan MASP3 polimorfizmi taşıyanların daha erken yaşlarda kolonize oldukları bildirilmekle birlikte, doğal bağışıklık sistemine etki eden modifiye edici genlerle *P.aeruginosa* kolonizasyonu arasında ilişkiyi araştıran çeşitli çalışmalar devam etmektedir (480-485, 489, 490).

2.8.3 Moleküler Çalışmaların Epidemiyolojik Katkıları

KF akciğerleri zamana ve ortama bağlı olarak yüksek oranda değişim gösteren, heterojen bir yaşam ortamıdır. Çevreden kazanılan bir *P.aeruginosa* suşu zaman içinde KF hastalarının akciğerlerinde fenotipik değişikliklere uğrararak devamlılığını sürdürür (15). Değişen çevre koşulları, yardımcı genomun mikroevriminde gözlenen, klondan klon ve konaktan konağa çeşitlikle paralellik göstermektedir (308).

P.aeruginosa'nın kişiler arası bulaşıcılığını gösteren daha önceki çalışmalar, fenotipik özelliklere dayanmaktadır. Ancak fenotipik göstergeler epidemik suşların saptanabilmesi için güvenilir yöntemler değildir. Moleküler incelemeler ile *P.aeruginosa*'nın genotiplendirilmesi bulaş yollarının açığa çıkarılması açısından çok önemlidir.

Klonal suşlar, aynı, ilk bakteriyel odaktan kaynaklanırlar ve iki ayrı kişide saptanırlarsa kişiden kişiye bulaş desteklerler.

Aynı ya da farklı suşları, enfeksiyon kaynağını ve nozokomiyal çevrede çapraz bulaş saptamak açısından moleküler tiplendirme, enfeksiyon hastalıklarının epidemiyolojik çalışmaları için önemlidir. Salgında saptanan bakteriler sıklıkla genetik olarak akrabadırlar ve ata suşta meydana gelen mikroevrimle (genellikle nokta mutasyonlar) ilgili olayların sonucudurlar (341).

KF'li hastalarda, *P.aeruginosa*'nın kişiden kişiye bulaşabileceği 1980'li yılların başında düşünülmüş olsa da zamanla önemini kaybetmiştir. Ancak KF hastalarının kliniği üzerinde zararlı etkileri gözlenen bazı *P.aeruginosa* suşları tanımlandıktan sonra tekrar çalışmaların odağı haline gelmiştir.

Gelecek çalışmalar; *P.aeruginosa*'nın bulaş yollarını açığa kavuşturmak, KF merkezleri arasında suş çeşitliliğini saptamak amaçları ile KF hastalarında ve çevrede dominant olan suşların sürveyansına odaklanmalıdır.

Moleküler tiplendirme yöntemleri ile klonal suşların belirlenmesi klinik açıdan da çok önemli etkilere sahiptir. *P.aeruginosa*'nın klonal dağılımına ilişkin enfeksiyon kontrolü ile ilgili endişelerden dolayı Kuzey Amerika'da da güncel araştırmaların konusudur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Enfeksiyon Hastalıkları, Klinik İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı tarafından kistik fibrozis tanısı ile takipli olup, solunum yolları *P.aeruginosa* ile kolonize olan 20 hasta alındı. Veriler Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul onayı alındıktan sonra prospektif olarak toplandı. Kistik fibrozis tanısı, hastalıkla ilişkili en az bir klinik bulgu ile birlikte ter testi pozitifliği ile konulmuş idi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Verilerin Toplanması

Bilgiler hastaların poliklinik izlemi sırasında yapılan muayene ve laboratuvar tetkiklerinden elde edildi. Çalışmaya alınan tüm çocukların yaşı, cinsiyeti, tanı yaşı, daha önceki solunum yolu bakteriyel kolonizasyonu (*S.aureus*, *H.influenzae*, *P.aeruginosa*) ve süresi, kullanmakta olduğu tedaviler (Pankreas enzimleri, ADEK vitaminleri, inhale deoksiribonükleaz, inhale tobramisin, inhale steroid) kaydedildi. Çalışma boyunca üçer aylık dönemlerde hastaların akciğer alevlenmelerinin sayısı kaydedildi, vücut kitle indeksleri hesaplandı. İzlemleri sırasında tam kan sayımı; serum glikoz, üre, kreatinin, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), albümin, kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz, 25 OH D vitamini, parathormon, amilaz, C reaktif protein düzeyleri ve eritrosit sedimenasyon hızı (ESH) kontrol edildi. 25 OH D vitamini düzeyi 30-60 ng/mL arası normal kabul edildi (167). Üçer aylık dönemlerde balgam kültürü alındı. Uyum sağlayabilen hastalarda solunum fonksiyon testi yapıldı. Birinci saniye zorlu ekspiryum volümü (FEV1) değeri ZAN 100 Flowhandy II (nSpire Health GmbH, Oberthulba, Germany) cihazı ile ölçüldü.

3.2.2 Mikrobiyolojik Testler ve Dendogramların Değerlendirilmesi:

3.2.2.1 Solunum Yolu Örneklerinin Kültürlerinin Yapılması, Üreyen Suşların İdentifikasyonu ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Balgam örnekleri dithiothreitol (DTT) ile karıştırılarak homojenize edildi. Bu karışımdan hazırlanan sulandırımalar MacConkey Agar (BectonDickinson, USA) ve Triptik Soy Agar'a ekildi. Besiyerlerinde üreyen ve oksidaz pozitif olan tüm farklı morfolojideki gram negatif çomak kolonileri değerlendirilerek, kesin identifikasyon API 20 NE kiti ile yapıldı. *P.aeruginosa* olarak tanımlanan suşların antibiyotik duyarlılıkları Müller-Hinton Agar (Bio-rad, Fransa)'da disk diffüzyon yöntemi (Kirby-Bauer) ile Clinical Laboratory and Standarts Institute (CLSI) kriterleri doğrultusunda araştırıldı.

3.2.2.2 *P.aeruginosa* suşlarının PFGE ile genotiplendirilmesi

1-PFGE profilleri belirlenecek olan suşlardan 5 ml TSB sıvı besiyerlerine pasaj alındı ve 37 °C'de bir gece çalkalamalı etüvde inkübe edildi.

2-Örneklerden 1.2 ml eppendorf tüpüne aktarıldı ve 13.00 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.

3-Üst sıvı atıldı ve çökelti tekrar 15 saniye 13.000 rpm'de santrifüj edildi ve üst sıvı tekrar uzaklaştırıldı.

4-Altta kalan çökelti üzerine 500 µl CSB (100 mM Tris, 100 mM EDTA, pH8) ilave edilerek vortekslendi.

5-Tekrar 13.000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve üst sıvı uzaklaştırıldı.

6-Pelet üzerine 1000 µl CSB ilave edildi, karışım vortekslendi. 55 °C'de 10-15 dakika bekletildi.

7. Bakteri yoğunluğu spektrofotometre yardımıyla 590 nm’de 1 absorbans (yaklaşık McFarland 4 bulanıklığı) olacak şekilde ayarlandı.

8. Bakteri süspansiyonu 55 °C’de 10-15 dakika bekletildi.

9-55 °C’de bekletilen eppendorf tüpleri üzerine %2’lik low melting agarozdan (Biorad) (0,2 gr agar, 10 ml CSB solusyonu) konuldu ve 55 °C’de 10-15 dakika bekletildi.

10-55 °C’de bekletilen agarozdan (150 µl) ve bakteri süspansiyonundan (150 µl) eşit miktarda karıştırıldı, bu karışımdan 100 µl agaroz kalıbına dökülerek buzdolabında 30 dakika bekletildi.

11- Eppendorf tüplerine lizis solüsyonundan 1000 µl (1 test) ilave edildi. Bu solüsyonlar üzerine donmuş agaroz plakları aktarıldı.

12- Tüpler çalkalamalı su banyosunda 55 °C’de bir gece bekletildi

13-Ertesi gün agaroz blokları 50 ml’lik burgulu kapaklı plastik tüplere aktarılarak su banyosunda (µl) bekletilmiş olan ultra saf su ile 3 kez yıkandı. Aynı yıkama işlemleri TE-12 solusyonu(55 °C’ye getirilmiş) ile 15’er dakika aralıklarla üç kez tekrarlanarak yıkandı.

14-Yıkama işlemi sonrası agaroz bloklar bistüri yardımı ile 2 eşit parçaya ayrıldı. Agaroz plakların yarısı eppendorf tüplerine aktarıldı, üzerlerine 150 µl enzimsiz buffer (15 µl enzim buffer (10X) + 135 µl l ultra saf su) ilave edildi, 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

15- Tüpün içindeki enzimsiz solüsyon agaroz plaklara zarar verilemeden boşaltıldı ve üzerlerine enzimli buffer (85 µl ultra saf su + 10 µl enzim buffer (10X) + 6 µl speI enzimi (2000 U) ilave edildi. PFGE protokolünün başlangıç aşamasında speI ve XbaI enzimleri ile ayrı ayrı çalışıldı. Restriksiyon ve band ayrımı speI enzimi ile daha iyi gerçekleştiğinden protokole speI enzimi ile devam edildi.

16- Bloklar 37°C’de en az 4 saat, su banyosunda bekletildi.

17- Elektroforez işlemi %1 agaroz jelde 0.5X TBE solüsyonunda (44.5 mM Trizma base, 44.5 mM borik asit, 1 mM EDTA) CHEF-DRIII drive module (Bio-Rad Laboratories Ltd., Hemel Hempstead, United Kingdom) cihazında, başlangıç vuruş süresi 6 saniye ve fragmanların ayrılması için bitiş vuruş süresi 22 saniye, vuruş açısı 120°, akım 6V/cm², sıcaklık 14 °C, süre 18 saat olacak şekilde ayarlandı. Marker olarak Lamda Ladder PFGE marker (BioLabs) kullanıldı Jel etidyum bromid (1 µg/ml) ile 40-60 dakika boyandı, 30 dakika ultrasaf suda yıkandıktan sonra UV ışığı altında, transilüminatör kullanılarak görüntülendi. DNA band görüntülerinin fotoğrafları çekildi. Resimler TIFF formatında kaydedildi.

18- GelCompar II yazılım sistemi (version 6.0; Applied Maths) kullanılarak band profilleri analiz edildi. Her resimde bulunan üç adet marker (1., 6., 10. Kuyucuklarda yürütülen) yardımı ile resimler arası normalizasyon yapıldı. ‘Unweighted pair group method with mathematical averaging (UPGMA)’ kullanılarak PFGE profillerinin, dendrogramı oluşturuldu. Bandlara bağlı ‘Dice’ benzerlik katsayısına göre suşlar arasındaki ilişki belirlendi. Benzerlik katsayısının hesaplanmasında band ve profil toleransı; %1-1.5 alındı (BioNumerics software).

Tenover ve ark. tarafından geliştirilmiş kriterler kullanılarak izolatlar değerlendirildi (13).

Solusyonlar:

- 1- 1M (1000 mM) TE Buffer (Tris) Solusyonu: 12.11 g Tris base buffer toz (Multicell) tartılır; pH 8 olacak şekilde ultra saf su ile toplam hacim 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir.
- 2- 1 M (1000 mM) Tris HCl solüsyonu: 15.67 g Tris (hydroxymethyl) Amino Methane Hydrochloride (HCl) tartılır, pH 8 olacak şekilde ultra saf su ile toplam hacim 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir.
- 3- CSB solüsyonu (100 mM Tris, 100 mM EDTA, pH 8):
1 M (1000 mM) Tris, pH8: 10 ml
0.5 M (500 mM) EDTA, pH8: 20 ml
Ultra saf su: 70 ml
- 4- Lizis Buffer:
0.5 M EDTA, pH8: 8 ml
% 10 N-lauryl Sarcosine (1 g N-lauryl Sarcosine, 10 ml ultra saf su): 1 ml
- 5- Lizis solüsyonu (Bir testlik):
Lizis buffer: 800 µl
Lizozim (10 mg/ml): 100 µl
Proteinaz K (10 mg/ml): 100 µl
RNAse (2 mg/ml): 2 µl
Mutanolizin: 20 µl
Toplam hacim 1 ml olmalıdır.

6- TE-10 solüsyonu: 10 mM TrisHCL, 10 mM EDTA, pH8

1 M Tris HCL, pH8: 10 ml

0.5 M EDTA, pH8: 20 ml

Ultra saf su: 970 ml

Toplam hacim 1000 ml olacak şekilde steril koşullarda hazırlanır.

7- 0.5X TBE solüsyonu:

Elektroforez tankına dökülecek 0.5X TBE'nin toplam hacmi 2 L olmalıdır.

10X TBE: 100 ml

1900 ml ultra saf su

Agarozlar:

1- %1 Agaroz :

1 g 'Pulse Field Certified Agarose' (Bio-Rad), 100 ml 0.5X TBE; 200 ml'lik burgulu kapaklı cam şişeye aktarılır. Mikrodalga fırında 3 dakika tutularak ağarın homojen şekilde erimesi sağlanır. Agaroz. 55 °C'ye getirilmiş su banyosunda bekletilir, ısısının düşmemesi sağlanır.

2- %2 Low Melting Agaroz:

0.2 g Low Melting Agaroz tartılır, üzerine 10 ml CSB solüsyonundan eklenir, mikrodalga fırında en düşük ısıda 1'er dakika tutularak, homojen şekilde erimesi sağlanır. Su banyosu veya ısı bloğunda 55 °C'ye soğutulması sağlanır.

4. BULGULAR

Poliklinik kontrolüne gelen, solunum yolları *P.aeruginosa* ile kolonize olan 20 hastanın çalışmaya alınması planlandı. Hastalardan bir tanesi ulaşım sorunları ve hastalığının ağırlığı nedeniyle kontrollere gelemedi, diğer bir hastanın da kontrol balgam kültürlerinde *P.aeruginosa* üremedi ve geçici kolonizasyon olarak değerlendirildi. Belirtilen hastalar çalışma dışı bırakıldı, çalışmaya 18 hasta ile devam edildi.

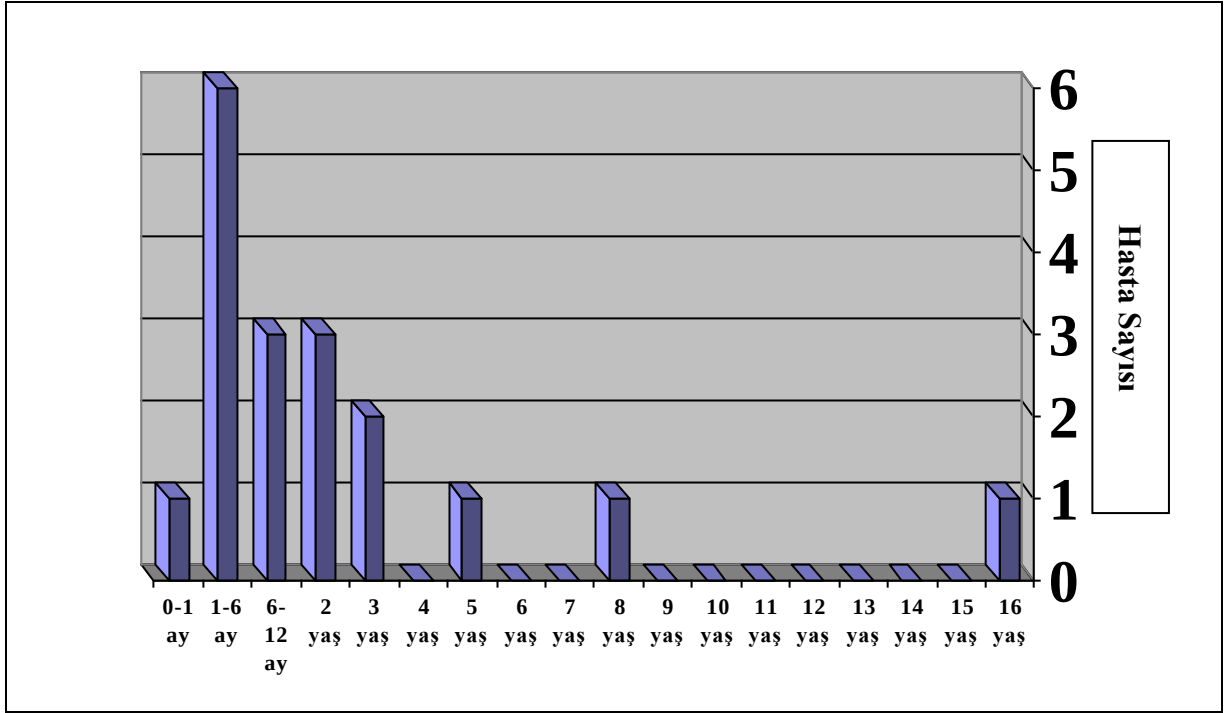
Hastalara ait demografik ve klinik veriler tablo 1’de gösterilmiştir. Hastaların 9’u (% 50) kız, 9’u (% 50) erkek, yaş ortalaması ise $13 \pm 4,5$ yıl (1.83-22.08) idi.

Tablo 4. Hastalara ait demografik ve klinik veriler.

Toplam hasta sayısı	18
Cinsiyet (n, %)	Kız (9, 50) Erkek (9, 50)
Ortalama yaş (yıl), (aralık)	$13 \pm 4,5$ yıl (1.83-22.08)
Ortalama tanı konulma yaşı (yıl), (aralık)	2.59 ± 3.95 yıl (0.08-16)
Daha önceki balgam/orofarenks sürüntü kültüründe üreyen mikroorganizmalar (n, %)	S.aureus (8/ 44.4) H.influenzae (5/ 27.8)

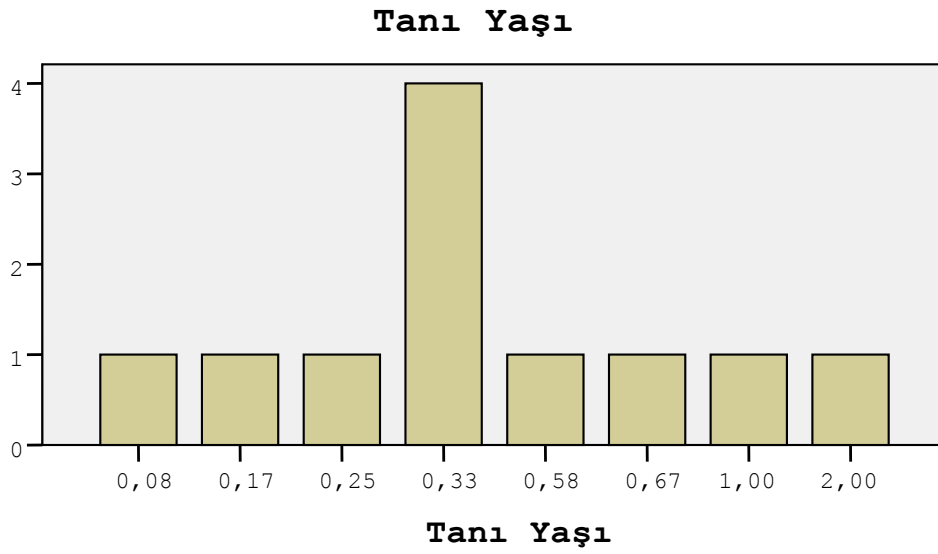
Hastalara tanı konulma yaşı ortalama 2.59 ± 3.95 yıl (0.08-16) olarak bulundu. Hastaların 11’ine (%61) 2 yaşına kadar tanı konulmuş idi (Şekil 9).

Şekil 9. Hastalarımızın tanı konulma yaşlarının dağılımı



İki yaşında ve altında tanı alan hastaların yaş dağılımları Şekil 10.'da gösterilmiştir

Şekil 10. İki yaşında ve altında tanı alan hastaların yaş dağılımları



Hastaların birinde (% 5,6) kistik fibroz ilişkili diyabet (CFRD), 4'ünde (% 22,2) bozulmuş glukoz toleransı eşlik etmekteydi, CFRD olan hasta insülin tedavisi almaktaydı. Hastaların dördünde KF tanılı kardeş öyküsü belirtilmekteydi.

Hastaların özgeçmişinde; ikisinde yenidoğan döneminde sarılık (% 11,1), birinde mekonyum ileusu (% 5,6), 12'sinde tanı anında ishal (% 66,7), 3'ünde hemoptizi (% 16,7), 3'ünde kronik karaciğer hastalığı (% 16,7), birinde özefagus varisi (% 5,6), 2'sinde gastroözefageal reflü (% 11,1), 2'sinde özefajit (% 11,1), 3'ünde gastrit (% 16,7), 3'ünde duodenit (% 16,7), 1'inde pnömotoraks (% 5,6), 2'sinde geçirilmiş toraks cerrahisi (% 11,1), 1'inde allerjik bronkopulmoner aspergillozis (% 5,6) vardı.

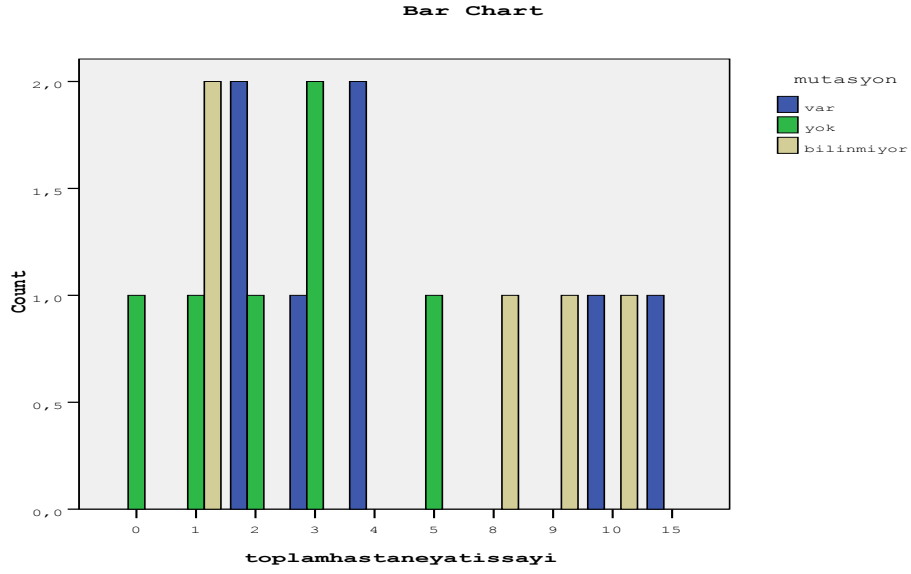
Mutasyon hastaların yedisinde saptanmıştı, mutasyon tipleri tablo 5'te gösterilmiştir. Mutasyon saptanan hastaların 5'i deltaF508 allelini taşımaktaydı. Mutasyon varlığı, mutasyon tipi ve deltaF508 alleli taşıma durumları ile alevlenme sayıları arasında bir ilişki saptanmadı.

Tablo 5. Hastalarda saptanan mutasyonlar

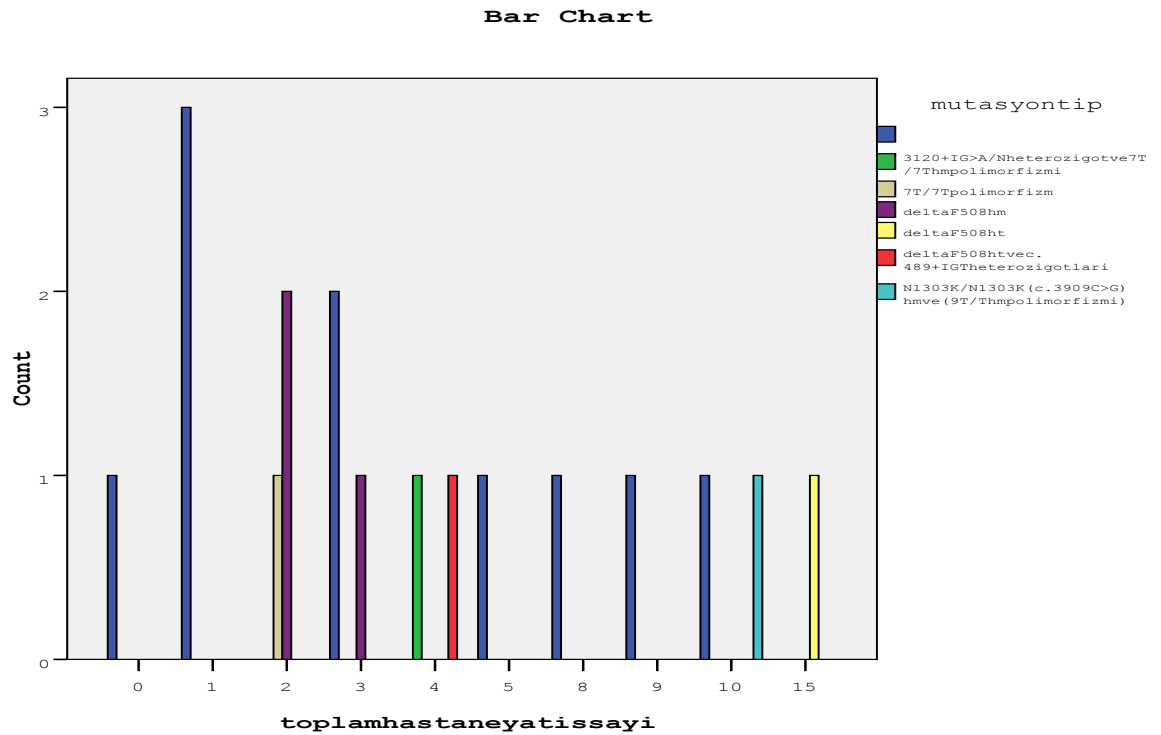
	n	%
3120+IG>A/Nheterozigotve7T/7Thmpolimorfizmi	1	5,6
7T/7Tpolimorfizm	1	5,6
deltaF508hm	3	16,7
deltaF508ht	1	5,6
deltaF508htvec.489+IGTheterozigotlari	1	5,6
N1303K/N1303K(c.3909C>G)hmve(9T/Thmpolimorfizmi)	1	5,6

Mutasyon durumuna göre hastane yatış sayıları şekil 11'de ve şekil 12'de gösterilmiştir.

Şekil 11. Mutasyon durumuna göre hastane yatış sayıları



Şekil 12. Mutasyon tiplerine göre hastane yatış sayıları



Daha önceki balgam veya orofarenks sürüntü kültürlerinde 8 hastada (% 44.4) *S.aureus*, 5 hastada (% 27.8) *H.influenzae* üretildiği belirlendi.

P.aeruginosa taşıyıcılık süresi ortalama 4.93 ± 2.48 yıl (1,3 – 10,5) olarak bulundu.

Hastaların solunum yolu kültürlerinde, *P.aeruginosa* saptandıktan sonraki dönemde, *P.aeruginosa* dışında üreyen patojenler tablo 6’da ve tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 6. *P.aeruginosa* saptandıktan sonra ilk üreyenler

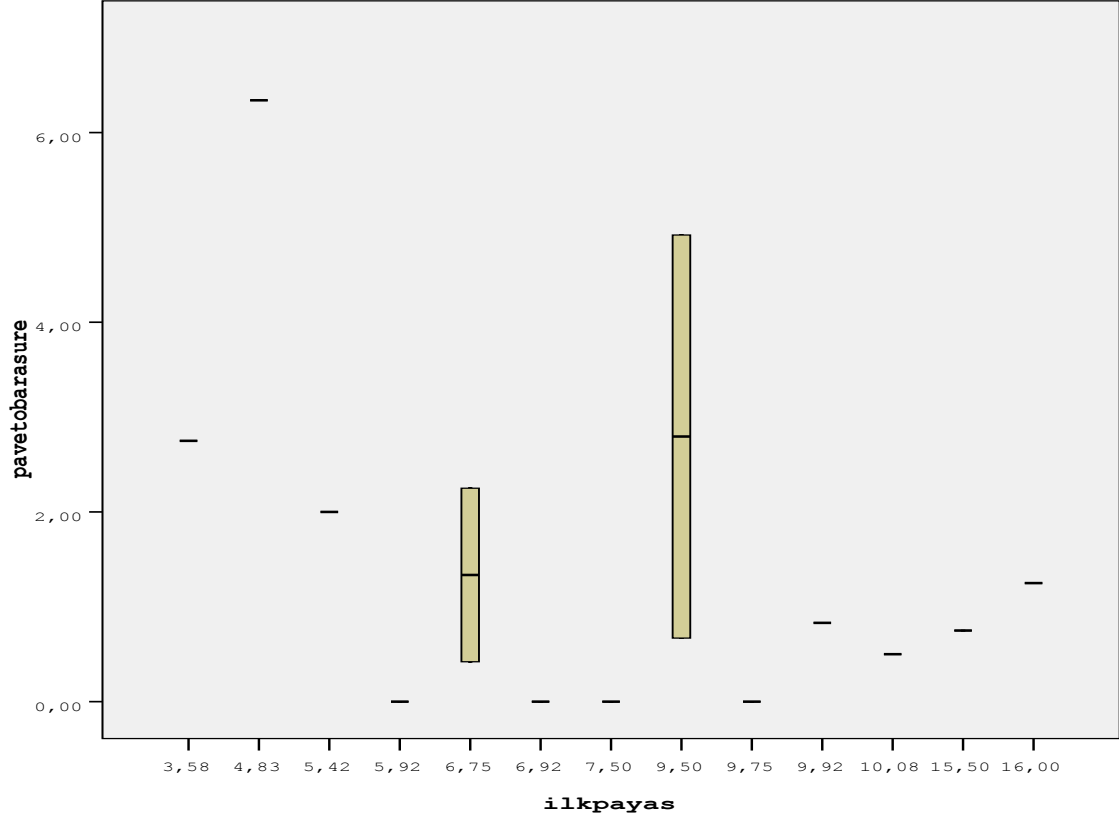
	<i>Acinetobacter</i>	<i>Candida sp</i>	<i>E coli</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>MSSA</i>	Toplam
n	1	3	1	1	1	7
%	14,3	42,9	14,3	14,3	14,3	100

Tablo 7. *P.aeruginosa* saptandıktan sonra son üreyenler

	<i>Aspergillus</i>	<i>Candida sp</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	Yok	Toplam
n	1	2	1	1	2	7
%	14,3	28,6	14,3	14,3	28,6	100

Hastalara *P.aeruginosa* kolonizasyonu saptandıktan sonra inhale tobramisin başlanma süresi ortalama $1,51 \pm 1,90$ yıl (0-6,34) saptandı. *P.aeruginosa* saptanma yaşlarına göre inhale tobramisin başlanması için geçen süre şekil 13’te gösterilmiştir.

Şekil 13. *P.aeruginosa* Saptanma Yaşı ile İn hale Tobramisin Baslanması Arası Geçen Süre (yıl)



Hastaların 14'ünün (%77.5) ilaçlarını düzenli kullandığı, 3'ünün (%16.7) düzensiz kullandığı, 1'inin reddettiği saptandı.

Hastaların geçirmiş oldukları akciğer alevlenmelerinin sayısı; birinci üç aylık dönemde 2, ikinci üç aylık dönemde 4, üçüncü üç aylık dönemde 4 olarak bulundu. Çalışma dönemi boyunca 0-5 yaş grubunda hiç atak görülmezken, 6-10 yaş grubunda 2 atak (% 11,2), 11-15 yaş grubunda 6 atak (% 33,6), 16 yaş ve üzeri grupta 2 atak (% 11,2) saptandı. Çalışmaya alınan hastaların çalışma öncesi dönemde hastaneye yatış oranları tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Çalışma Öncesi Yatış Sayıları

Hastaneye yatış	n	%
Son 3 ay	1	5,6
Son 1 yıl	7	38,9
Son 2 yıl	9	50
Son 5 yıl	15	83,3
Son 10 yıl	16	88,9
Son 15 yıl	17	94,4

Tablo 9. Çalışma Öncesi Son 1 yılda Yatan Hastaların Dağılımı

Yatış Sayısı	n	%
0	11	61,1
1	5	27,8
2	1	5,6
3	1	5,6
Toplam	18	100,0

Tablo 10. Çalışma Öncesi Son 2 yılda Yatan Hastaların Dağılımı

Yatış Sayısı	n	%
0	9	50,0
1	3	16,7
2	4	22,2
3	1	5,6
4	1	5,6
Toplam	18	100,0

Tablo 11. Çalışma Öncesi Son 5 yılda Yatan Hastaların Dağılımı

Yatış Sayısı	n	%
0	3	16,7
1	3	16,7
2	4	22,2
3	5	27,8
4	1	5,6
7	1	5,6
8	1	5,6
Toplam	18	100,0

Tablo 12. Çalışma Öncesi Son 10 yılda Yatan Hastaların Dağılımı

Yatış Sayısı	n	%
0	2	11,1
1	3	16,7
2	3	16,7
3	3	16,7
4	2	11,1
6	1	5,6
7	1	5,6
8	2	11,1
15	1	5,6
Toplam	18	100,0

Tablo 13. Çalışma Öncesi Son 15 yılda Yatan Hastaların Dağılımı

Yatış Sayısı	n	%
0	1	5,6
1	4	22,2
2	3	16,7
3	2	11,1
4	3	16,7
6	1	5,6
8	3	16,7
15	1	5,6
Toplam	18	100,0

Çalışma öncesi dönemde yatış sıklıklarına göre hastaların dağılımı ise tablo 14’te gösterilmiştir.

Tablo 14. Çalışma öncesi yatış sıklığına göre hastaların dağılımı

Önce Yatış Sayısı	n	%
0	1	5,6
1	5	27,8
2	2	11,1
3	2	11,1
4	3	16,7
6	1	5,6
8	3	16,7
15	1	5,6
Toplam	18	100,0

Çalışma süresince yatış sıklığına göre hastaların dağılımı ise tablo 15’te gösterilmiştir.

Tablo 15. Çalışma Başladıktan Sonra Yatış Sayısı

Yatış Sayısı	n	%
0	12	66,7
1	4	22,2
2	1	5,6
4	1	5,6
Toplam	18	100

Hastaların yaşam kalitesi ile ilgili bulgular tablo 16’da ve şekil 14’te verilmiştir.

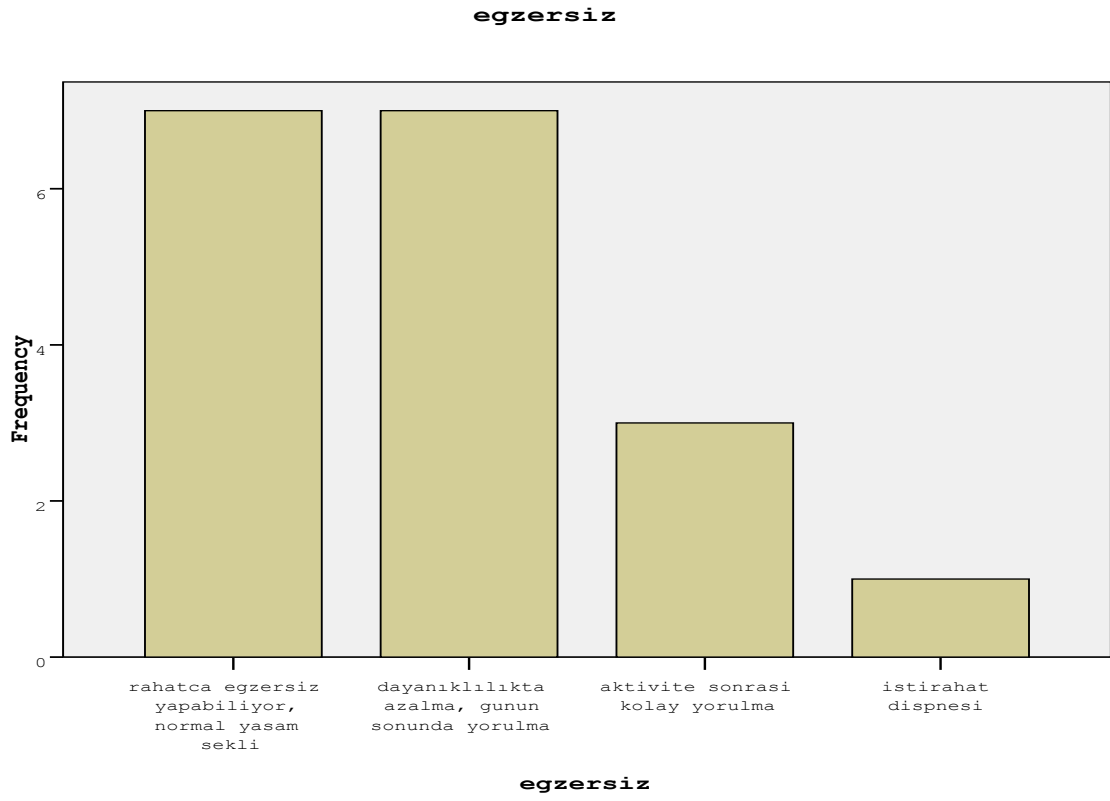
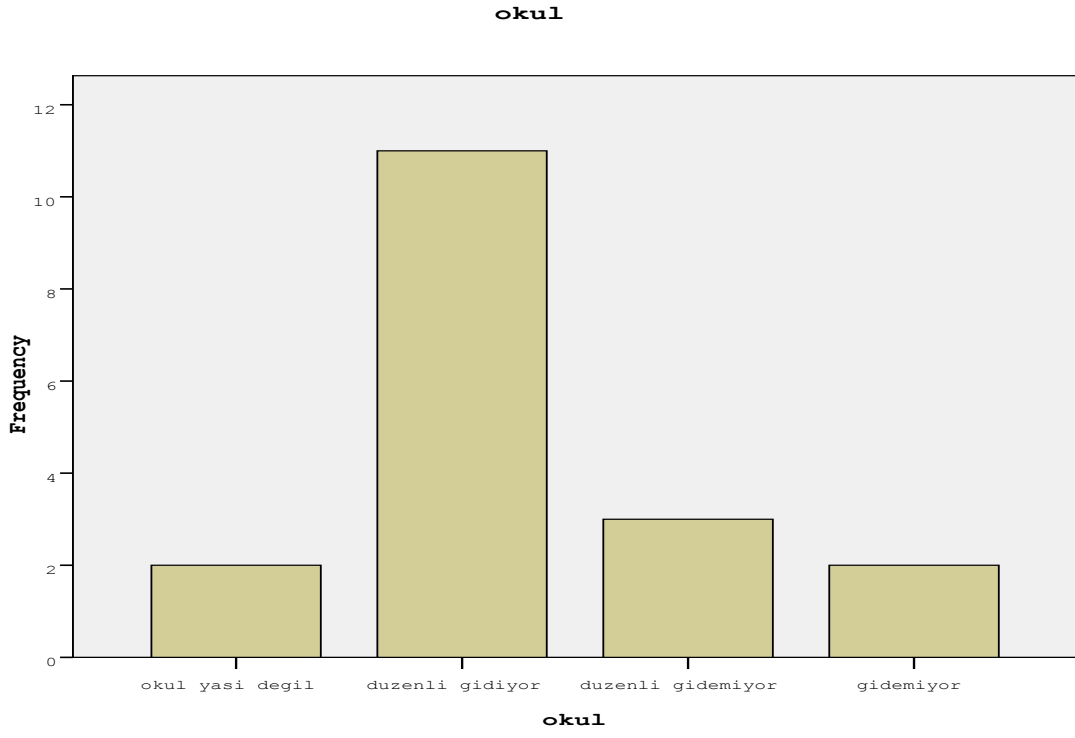
Tablo 16. Hastaların Okula Devam Bilgileri ve Egzersiz Durumları

	n	%
Okul yaşında değil	2	11,1
Düzenli gidiyor	11	61,1
Düzenli gidemiyor	3	16,7
Hiç gidemiyor	2	11,1
Toplam	18	100,0

Egzersiz Durumu

	n	%
Rahatça egzersiz yapabiliyor, normal yaşam şekli	7	38,9
Dayanıklılıkta azalma, günün sonunda yorulma	7	38,9
Aktivite sonrası kolay yorulma	3	16,7
İstirahat dispnesi	1	5,6
Toplam	18	100,0

Şekil 14. Hastaların Okula Devam Bilgileri ve Egzersiz Durumları



Çalışma döneminde hastaların yakınmaları tablo 17 - 26 'da görülmektedir.

Tablo 17. Çalışma Süresince İştah Durmunda Değişiklik

	1. Dönem		2. Dönem		3. Dönem	
	n	%	n	%	n	%
Az	2	11,1	4	22,2	3	16,7
İyi	11	61,1	10	55,6	8	44,4
Çok iyi	5	27,8	4	22,2	7	38,9
Toplam	18	100,0	18	100,0	18	100,0

Tablo 18. Çalışma Süresince Öksürük

	1. Dönem		2. Dönem		3. Dönem	
	n	%	n	%	n	%
Sıklıkla	14	77,8	11	61,1	12	66,7
Arada	1	5,6	6	33,3	2	11,1
Sadece sabahları	1	5,6	1	5,6	3	16,7
Yok	2	11,1	0	0	1	5,6
Toplam	18	100	18	100,0		

Tablo 19. Çalışma Süresince Balgam

	1. Dönem		2. Dönem		3. Dönem	
	n	%	n	%	n	%
Var	16	88,9	18	100,0	14	77,8
Yok	2	11,1	0	0	4	22,2
Toplam	18	100,0	18	100	18	100,0

Tablo 20. Çalışma Süresince Balgam Rengindeki Değişiklik

	1. Dönem		2. Dönem		3. Dönem	
	n	%	n	%	n	%
Beyaz	1	5,6	2	11,1	0	0
Kahverengi	1	5,6	1	5,6	0	0
Sarı	2	11,1	3	16,7	4	22,2
Sarı-Yeşil	4	22,3	1	5,6	2	11,1
Yeşil	8	44,4	11	61,1	8	44,4
Balgam yok	2	11,1	0	0	4	22,2
Toplam	18	100,0	18	100	18	100

Tablo 21. Çalışma Süresince Burun Tıkanıklığı

	1. Dönem		2. Dönem		3. Dönem	
	n	%	n	%	n	%
Var	9	50,0	10	55,6	12	66,7
Yok	9	50,0	8	44,4	6	33,3
Toplam	18	100,0	18	100,0	18	100,0

Tablo 22. Çalışma Süresince Dışkı Şekli

	1. Dönem		2. Dönem		3. Dönem	
	n	%	n	%	n	%
Normal	15	83,3	16	88,9	16	88,9
Yağlı	2	11,1	2	11,1	2	11,1
Kabız	1	5,6	0	0	0	0
Toplam	18	100,0	18	100,0	18	100,0

Tablo 23. Çalışma Süresince Karın Ağrısı

	1. Dönem		2. Dönem		3. Dönem	
	n	%	n	%	n	%
Var	8	44,4	5	27,8	4	22,2
Yok	10	55,6	13	72,2	14	77,8
Toplam	18	100,0	18	100,0	18	100,0

Tablo 24. Çalışma Süresince Balgam Miktarında Değişiklikler

	Balgam Miktarı (ml)			
	En az	En çok	Ortalama	SD
1. Dönem	0	200	63,56	80,896
2. Dönem	1	400	47,33	95,104
3. Dönem	0	400	59,61	106,355

Tablo 25. Çalışma Süresince Dışkılama Sayısında Değişiklikler

	Dışkılama Sayısı			
	En az	En çok	Ortalama	SD
1. Dönem	1	4	1,78	,943
2. Dönem	1	4	1,78	,878
3. Dönem	1	4	1,72	,895

Tablo 26. Çalışma Öncesinde Son 3 Ayda Tartı Kaybı

	n	%
Var	4	22,2
Yok	14	77,8
Toplam	18	100,0

Çalışmanın başlangıcında vücut kitle indeksi (VKİ) ortalamaları 16.29 ± 2.68 ; birinci 3 ay sonunda VKİ ortalamaları $15,91 \pm 2,63$; üçüncü 3 ay sonunda VKİ ortalamaları $16,31 \pm 2,70$ bulundu.

Hastaların çalışma süresince fizik muayene bulgularındaki değişiklikler tablo 27-'de ve şekil 15'de gösterilmiştir.

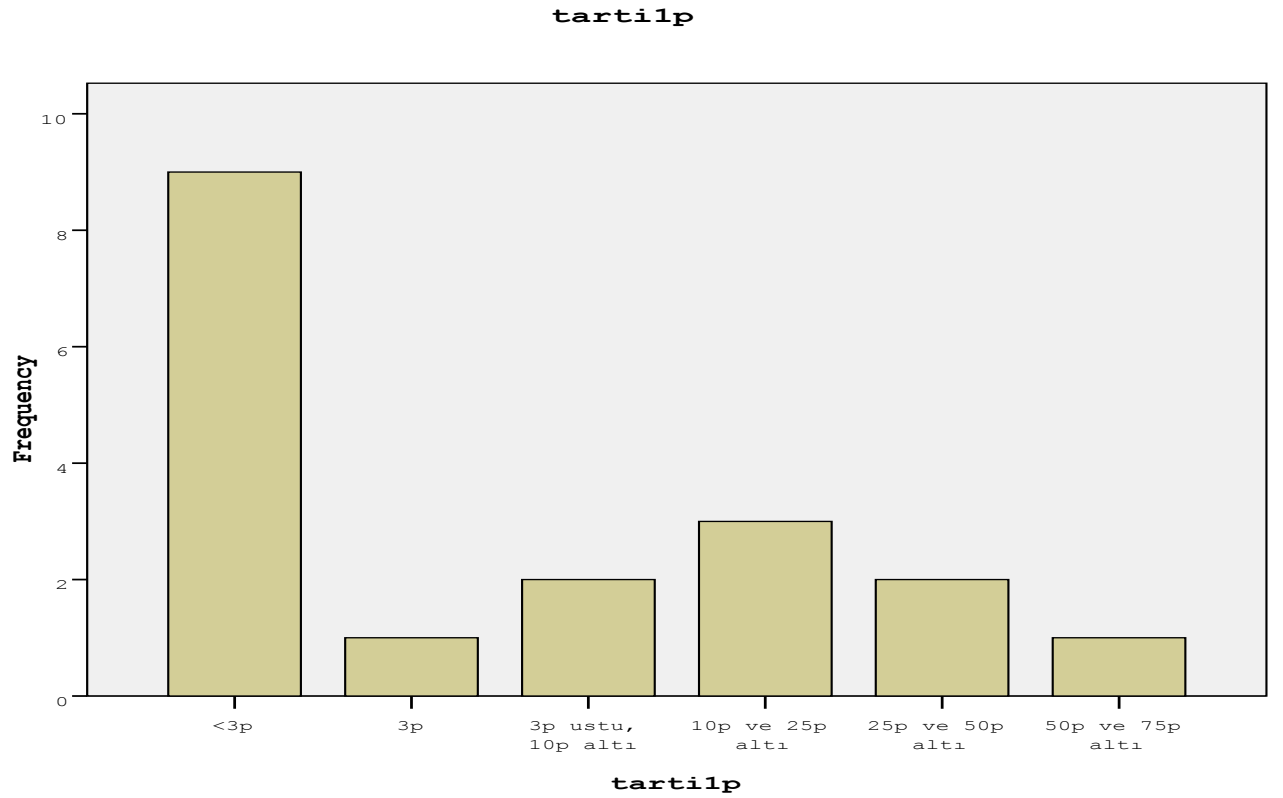
Tablo 27. Çalışma Süresince Tartı, Boy ve VKİ Değerleri

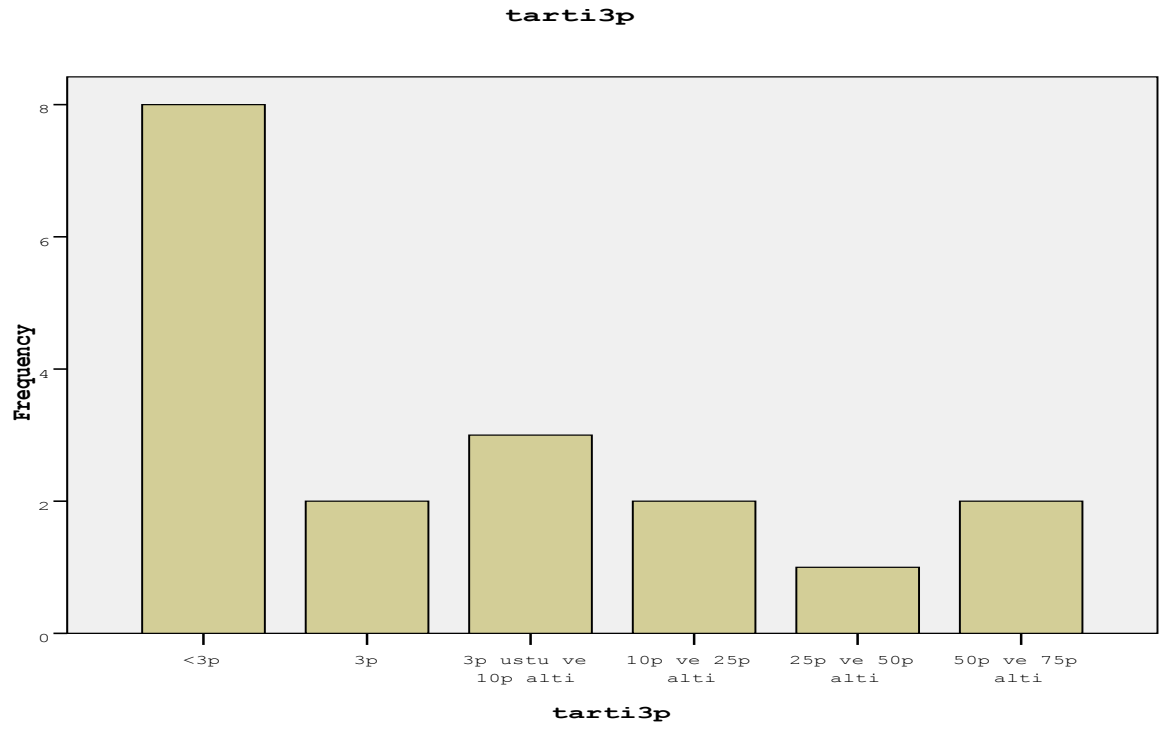
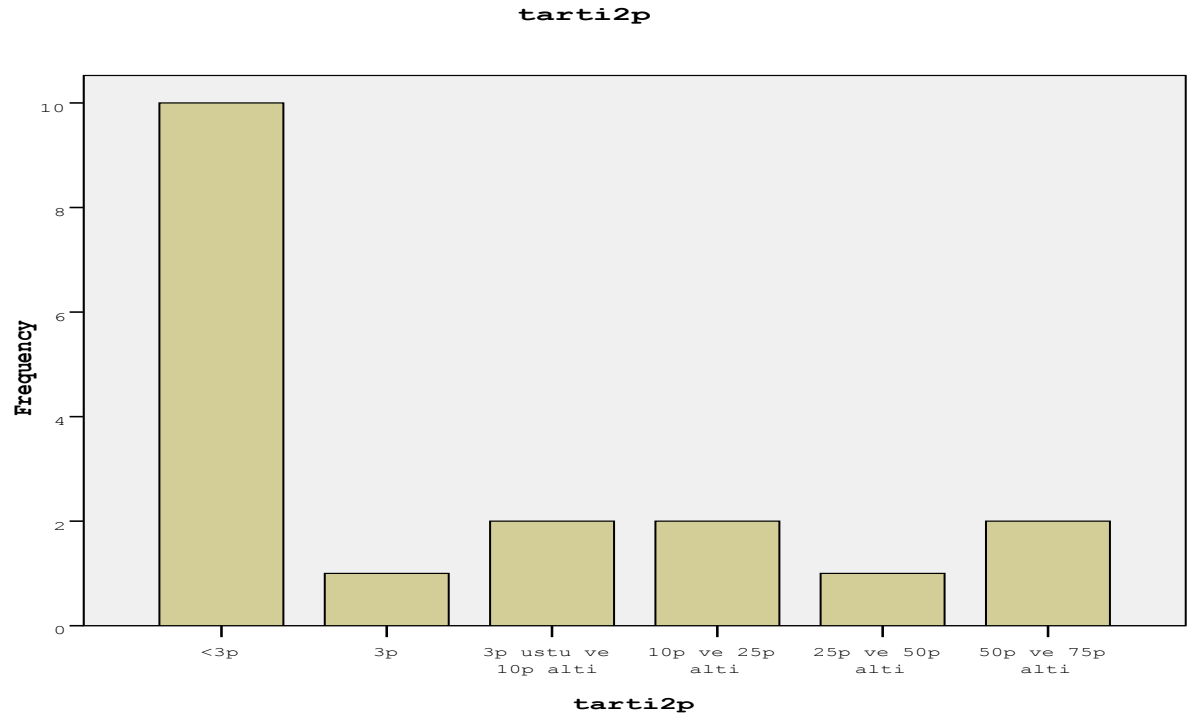
	1. Dönem			2. Dönem			3. Dönem		
	En düşük	En Yüksek	Ort	En düşük	En Yüksek	Ort	En düşük	En Yüksek	Ort
Tartı	12,4	60,0	$34,0 \pm 11,9$	12,5	58,0	$33,8 \pm 11,8$	14,0	60,0	$34,9 \pm 11,9$
Boy	87,0	164,0	$142,5 \pm 18,8$	90,0	164,0	$143,4 \pm 18,4$	94,0	166,0	$144,2 \pm 18$
VKİ	13,3	22,9	$16,3 \pm 2,7$	13,0	22,1	$15,9 \pm 2,6$	13,2	22,9	$16,3 \pm 2,7$

Tablo 28. Çalışma Süresince Tartı Persantil Değerleri

	1. Dönem		2. Dönem		3. Dönem	
	n	%	n	%	n	%
<3p	9	50,0	10	55,6	8	44,4
3p	1	5,6	1	5,6	2	11,1
>3p, <10p	2	11,1	2	11,1	3	16,7
≥10p, <25p	3	16,7	2	11,1	2	11,1
≥25p, <50p	2	11,1	1	5,6	1	5,6
≥50p, <75p	1	5,6	2	11,1	2	11,1
Total	18	100,0	18	100,0	18	100,0

Şekil 15. Çalışma Süresince Tartı Persantil Değerleri

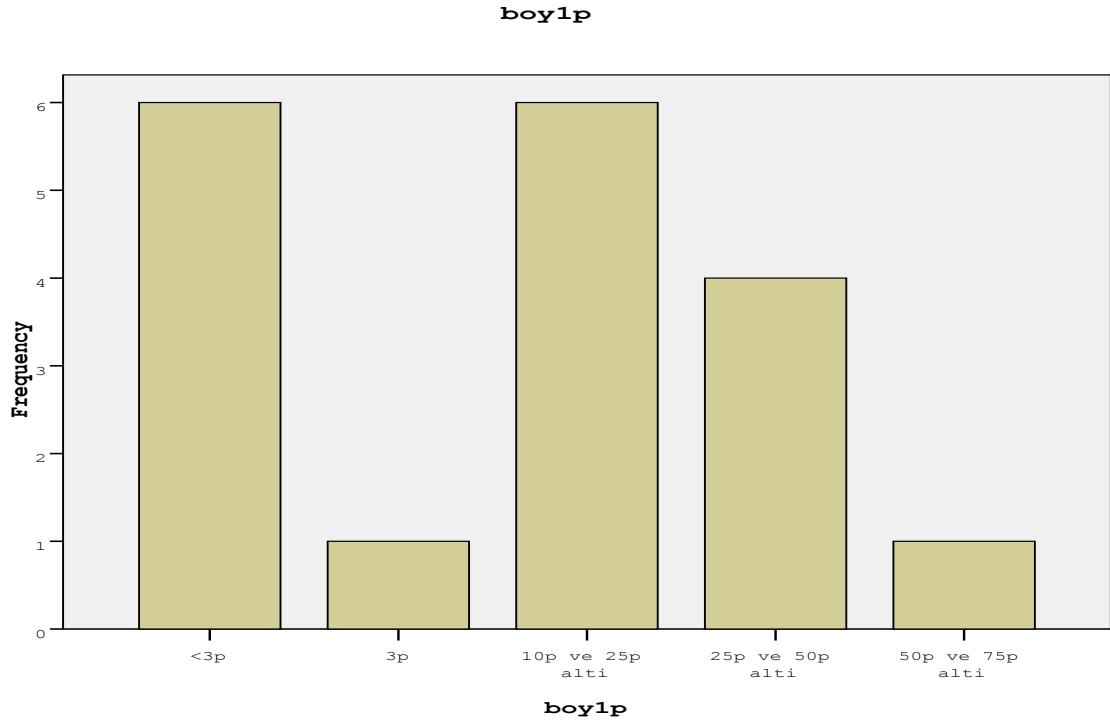


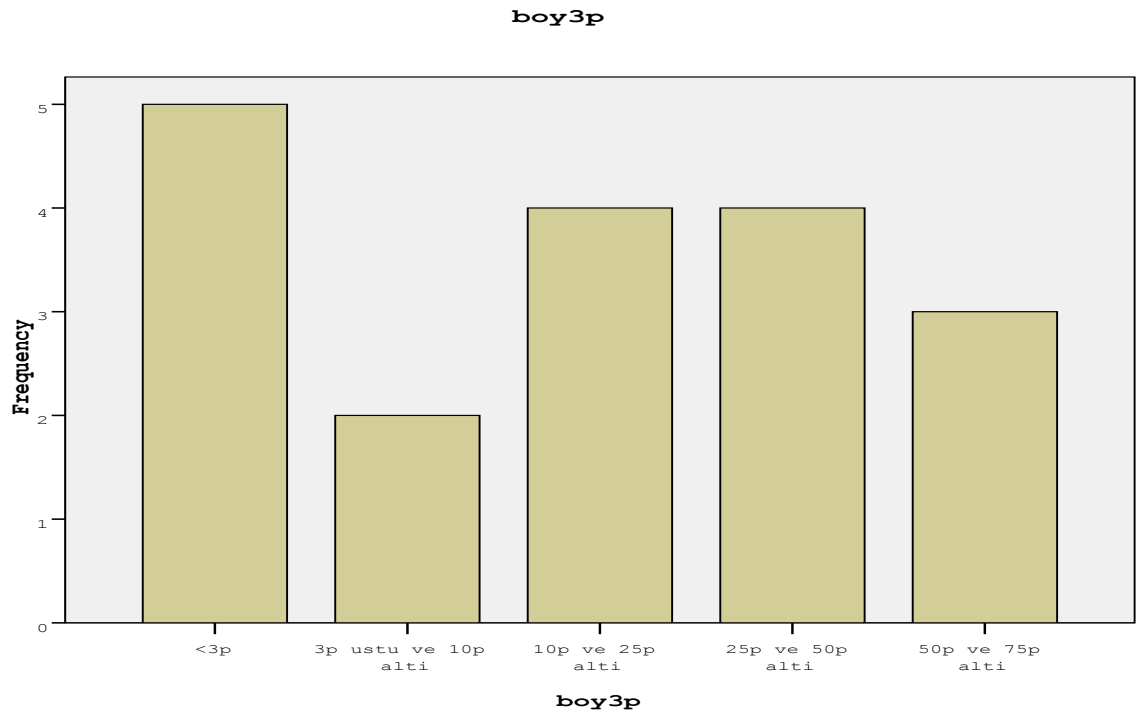
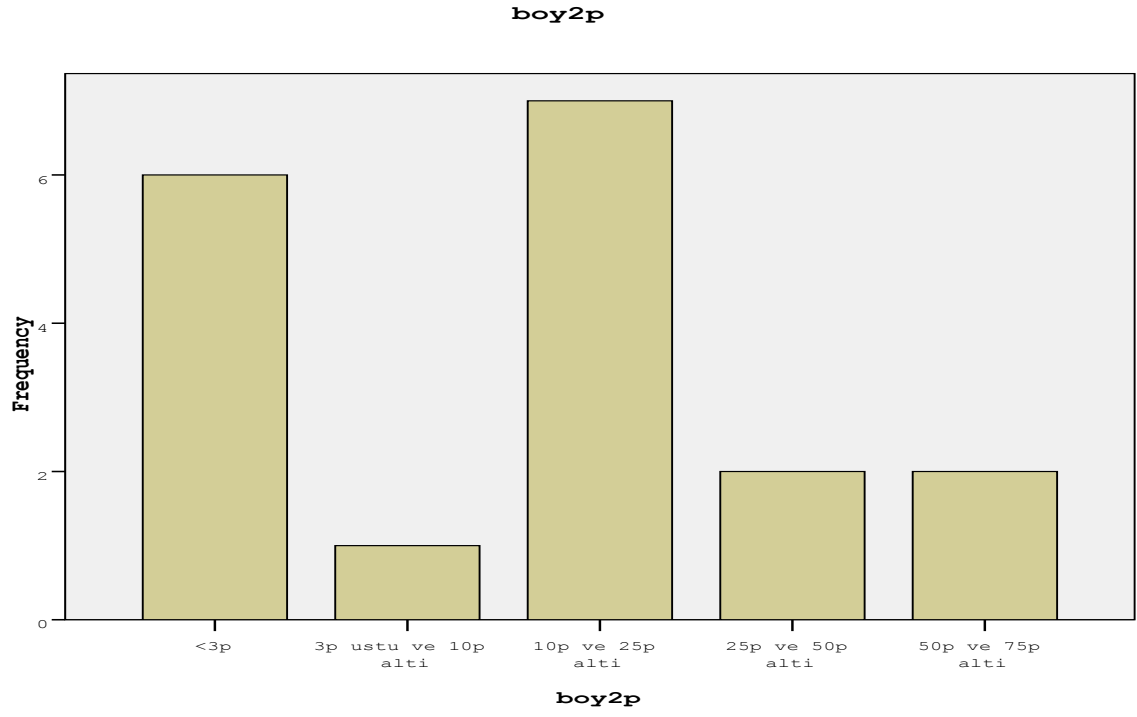


Tablo 29. Çalışma Süresince Boy Persantil Değerleri

	1. Dönem		2. Dönem		3. Dönem	
	n	%	n	%	n	%
<3p	6	33,3	6	33,3	5	27,8
3p	1	5,6	0	0	0	0
>3p,<10p	0	0	1	5,6	2	11,1
≥10p,<25p	6	33,3	7	38,9	4	22,2
≥25p,<50p	4	22,2	2	11,1	4	22,2
≥50p,<75p	1	5,6	2	11,1	3	16,7
Total	18	100	18	100	18	100

Şekil 16. Boy Persantil Değerleri





Tablo 30. Hastaların diğer fizik muayene bulguları

	1. Dönem		2. Dönem		3. Dönem	
	n	%	n	%	n	%
Ateş	0	0	0	0		
Solukluk	9	50,0	7	38,9	9	50,0
Siyanoz	0	0	0	0		
Dispne	2	11,1	1	5,6		
Ortopne	1	5,6	1	5,6		
İkter	0	0	0	0		
Ödem	0	0	0	0		
Çomak parmak	17	94,4	17	94,4	17	94,4
Fıçı göğüs	9	50,0	9	50,0	9	50,0
Batın distansiyonu	1	5,6	1	5,6	1	5,6
Assit	1	5,6	1	5,6	1	5,6
Hepatomegali	3	16,7	3	16,7	3	16,7
Splenomegali	3	16,7	3	16,7	2	11,1
Üfürüm	0	0	0	0		
Postnazal akıntı	8	44,4	8	44,4		
Göğüste Çekilmeler	1	5,6	0	0		

	1. Dönem		2. Dönem		3. Dönem	
	n	%	n	%	n	%
Normal Akciğer Dinleme Bulguları	4	22,2	2	11,1	6	33,3
Üst Akciğer Alanlarında Raller	2	11,1	2	11,1	0	0
Bazal Akciğer Alanlarında Raller	1	5,6	2	11,1	1	5,6
Yaygın Raller	11	61,1	12	66,7	11	61,1
Toplam	18	100,0	18	100,0	18	100,0

Hastaların kan sayımı ve biyokimyasal değerlerine ait veriler tablo 31’de ve immunglobulin düzeylerine ait veriler tablo 32’de gösterilmiştir.

Tablo 31. Hastaların kan sayımı ve biyokimyasal değerleri.

Parametre (birim)	Ortalama $\pm$ standart sapma	En küçük – en büyük değer
Lökosit (/mm³)	12995 $\pm$ 5309	4300 – 27100
Hemoglobin (g/dL)	12.6 $\pm$ 1.4	10 – 14.7
Ortalama eritrosit hacmi (fL)	79.3 $\pm$ 5.4	71 – 91
Trombosit (/mm³)	339.000 $\pm$ 124.000	134.000 – 635.000
Glikoz (mg/dL)	94.3 $\pm$ 15.4	59 – 148

HbA1c (%)	5.76 ± 0.43	4.9 – 6.4
Üre (mg/dL)	20.6 ± 6.1	10 – 33
Kreatinin (mg/dL)	0.54 ± 0.2	0.3 – 1.1
Aspartat aminotransferaz (IU/L)	28.5 ± 12	12 – 50
Alanin aminotransferaz (IU/L)	25,4 ± 18.4	9 – 87
Albümin (g/dL)	4.1 ± 0.4	3.3 – 4.7
Kalsiyum (mg/dL)	9.5 ± 0,7	8.2 – 11.2
Fosfor (mg/dL)	4.5 ± 0.9	2.5 – 5.6
Alkalen fosfataz (IU/L)	190 ± 133	10 – 516
25 OH D vitamini (ng/mL)	18,4 ± 10,4	4 – 41.2
Amilaz (U/L)	68.7 ± 46.8	30 – 187

Tablo 32. Hastaların immunglobulin düzeyleri

	Ortalama ± standart sapma	En küçük – en büyük değer
IgG	1537,6 ± 603,4	499 - 2310
IgA	190 ± 140, 2	7 - 433
IgM	127,4 ± 47,7	53 - 209
IgE	139,3 ± 186,4	11 - 650

Hastaların akciğer grafi bulguları tablo 33’te gösterilmiştir

Tablo 33. Akciğer Grafisi Bulguları

	n	%
Bronkovasküler işaretlerde artış, erken hiperinflasyon	1	5,6
Yama tarzı atelektaziler, orta hiperinflasyon, artmış bronkovasküler işaretler	2	11,1
Yaygın atelektazi ve infeksiyon alanları, minimal bronşektazi	8	44,4
Lober atelektazi ve bronşektazi, akciğerde kistik oluşumlar	7	38,9
Toplam	18	100,0

Hastaların yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi (HRCT) bulguları tablo 34’te gösterilmiştir

Tablo 34. Hastaların HRCT Bulguları

Bronşektazi	n	%
Yok	3	16,7
Sağ üst	1	5,6
Sağ üst ve orta	1	5,6
Sağ üst ve alt	2	11,1
Sağ üst, orta ve alt	9	50,0
Sağ orta	1	5,6
HRCT yok	1	5,6
Toplam	18	100,0

Bronşektazi	n	%
Bronşektazi yok	4	22,2
Sol üst	4	22,2
Sol üst ve alt	9	50,0
HRCT yok	1	5,6
Toplam	18	100,0

Bronşektazi Lingula	n	%
Var	9	50,0
Yok	8	44,4
HRCT yok	1	5,6
Toplam	18	100,0

Mukus Tıkacı	n	%
Var	2	11,1
Yok	15	83,3
HRCT yok	1	5,6
Toplam	18	100,0

Hava hapsi	n	%
Var	10	55,6
Yok	7	38,9
HRCT yok	1	5,6
Toplam	18	100,0

Peribronşiyal Duvar Kalınlaşması	n	%
Var	15	83,3
Yok	2	11,1
HRCT yok	1	5,6
Toplam	18	100,0

Solunum fonksiyon testi yapılabilen 17 hastanın, başlangıç FEV 1 değeri % 11.1'sinde hafif, % 61,1'inde orta ve % 16,7'sinde ağır; ikinci FEV 1 değeri % 16.7'sinde hafif, % 50'sinde orta ve % 27.8'inde ağır; üçüncü FEV 1 değeri % 5.6'sında hafif, % 55,6'sinde orta ve % 33.3'ünde ağır akciğer hastalığı ile uyumlu bulundu. Hastaların çalışma süresince FEV 1 değeri ortalamaları Tablo 36'da verilmiştir

Tablo 36. Hastaların FEV 1 ortalama değerleri

	FEV 1	
	Ortalama $\pm$ standart sapma	En küçük – en büyük değer
1. Dönem	53,8 $\pm$ 14,8	30 - 82
2. Dönem	53,8 $\pm$ 14,8	26 - 76
3. Dönem	53,8 $\pm$ 14,8	32 - 71

Hastaların batın ultrasonografi bulguları tablo 37'de gösterilmiştir.

Tablo 37. Hastaların batın US bulguları

BATIN US 1	n	%
Normal	9	50,0
Hepatomegali	1	5,6
Hepatosteatoz	4	22,2
Kronik karaciğer hastalığı ile uyumlu	1	5,6
Splenomegali	1	5,6
Splenomegali ve kronik karaciğer hastalığı	2	11,1
Toplam	18	100,0

Tablo 38. Hastaların batın US’de pankreas bulguları

PANKREAS BULGULARI	n	%
Normal pankreas	11	61,1
Yağlı atrofi	1	5,6
Atrofi	4	22,2
Pankreas ekojenitesinde artış	1	5,6
Kistik değişiklikler	1	5,6
Toplam	18	100,0

Tablo 39. Kulak Burun Boğaz bulguları

	n	%
Normal	8	44,4
Kronik sinuzit	4	22,2
Polip	5	27,8
Adenoid hipertrofisi	1	5,6
Toplam	18	100,0

Tablo 40. Kemik Mineral Yoğunluk (BMD) ölçümleri

	En düşük	En yüksek	Ortalama	SD
BMD (g/cm2)	0,480	0,833	0,587	0,0987
BMD (Z skoru)	-5,4	0,3	-1,5	1,370

Hastaların çalışma süresince Shwachman-Kulczycki Skoru değerleri Tablo 41’de verilmiştir

Tablo 41. Hastaların Shwachman-Kulczycki Skoru değerleri

Shwachman-Kulczycki Skoru		
	Ortalama $\pm$ standart sapma	En küçük – en büyük değer
1. Dönem	56,7 $\pm$ 16,4	25 - 85
2. Dönem	56,4 $\pm$ 12,9	35 - 85
3. Dönem	55 $\pm$ 14,5	35 - 85

Çalışmamızda toplam 107 suş izole edildi. İzole edilen suşların 58'i mukoid, 49'u mukoid olmayan suşlardı. Dönemlere göre izole edilen suşların dağılımı Tablo 42, 43 ve 44'te özetlenmiştir.

Tablo 42. Balgam Suş Sayılarının Çalışma Dönemlerine göre Hasta Sayılarına Dağılımı

	1.Dönem Hasta		2.Dönem Hasta		3.Dönem Hasta	
Suş Sayısı	n	%	n	%	n	%
0	0	0	0	0	2	11,1
1	5	27,8	4	22,2	3	16,7
2	8	44,4	11	61,1	7	38,9
3	4	22,2	3	16,7	6	33,3
4	1	5,6	0	0	0	0
Toplam	18	100,0	18	100,0	18	100,0

Tablo 43. Balgam Mukoid Suş Sayılarının Dönemlere Hasta Sayılarına Dağılımı

	1.Dönem Hasta		2.Dönem Hasta		3.Dönem Hasta	
Suş Sayısı	n	%	n	%	n	%
0	7	38,8	2	11,1	3	16,7
1	5	27,8	10	55,6	12	66,6
2	5	27,8	6	33,3	3	16,7
3	1	5,6	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
Toplam	18	100,0	18	100,0	18	100,0

Tablo 44. Balgam Mukoid Olmayan Suş Sayılarının Dönemlere Hasta Sayılarına Dağılımı

	1.Dönem Hasta		2.Dönem Hasta		3.Dönem Hasta	
Suş Sayısı	n	%	n	%	n	%
0	4	22,2	6	33,3	6	33,3
1	9	50,0	11	61,1	7	38,9
2	5	27,8	1	5,6	5	27,8
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
Toplam	18	100,0	18	100,0	18	100,0

Hastaların çalışma süresince solunum örneklerinden elde edilen *P.aeruginosa* izolatlarının dağılımı ise tablo 45’te verilmiştir.

Tablo 45. Solunum Örneklerinden Elde Edilen *P.aeruginosa* İzolatlarının Hastalara göre Dağılımı

Hasta No	1.Dönem			2.Dönem			3.Dönem					
	Toplam	M	NM	Toplam	M	NM	Toplam	M	NM	Toplam	M	NM
1	2	0	2	2	0	2	3	1	2	7	1	6
2	3	1	2	1	1	0	0	0	0	4	2	2
3	2	0	2	1	1	0	3	1	2	6	2	4
4	1	0	1	2	1	1	2	1	1	5	2	3
5	1	1	0	2	1	1	3	1	2	6	3	3
6	2	0	2	1	1	0	2	1	1	5	2	3
7	1	0	1	2	2	0	2	1	1	5	3	2
8	2	1	1	2	2	0	2	1	1	6	4	2
9	1	0	1	2	1	1	2	2	0	5	3	2
10	1	0	1	1	0	1	0	0	0	2	0	2
11	3	3	0	2	1	1	2	1	1	7	5	2
12	3	2	1	3	2	1	2	2	0	8	6	2
13	2	1	1	2	1	1	1	0	1	5	2	3
14	2	1	1	3	2	1	3	2	1	8	5	3
15	3	2	1	3	2	1	3	1	2	9	5	4
16	2	2	0	2	1	1	1	1	0	5	4	1
17	4	2	2	2	1	1	3	1	2	9	4	5
19	2	2	0	2	2	0	1	1	0	5	5	0
Toplam	37	18	19	35	22	13	35	18	17	107	58	49

Tüm çalışma döneminde; onsekiz hastanın balgam kültürlerinde toplam 107 *P.aeruginosa* suş izole edilmiştir. Kültürlerde izole edilen suşların fenotipleri; koloni morfolojileri, pigment oluşturma özellikleri, antibiyotik duyarlılıkları ile belirlenmiştir. Mukoid suş sayısı (n: 58, % 54,2), mukoid olmayan suş sayısından (n: 49, % 45,8) fazla bulunmuştur. En fazla sayıda pigment üreten suş 2 no'lu hastada gözlenmiştir. En fazla üretilen pigmentin ise yeşil olduğu

saptanmıştır. Pigment üreten suş sayısı toplam 21 olup, 5 farklı pigment grubuna ayrılmışlardır (Tablo 46).

Tablo 46. Pigment oluşturan *P.aeruginosa* suşlarının pigment gruplarına ve hastalara dağılımı

Pigment	(n)	Hasta no (suş sayı)
SARI-YEŞİL	1	1(1)
KIRMIZI	2	1 (1), 11(1)
KAHVERENGİ	3	2 (1), 12 (2),
KIRMIZI-KAHVERENGİ	1	5 (1)
YEŞİL	10	2 (1), 3 (2), 4 (1), 6 (1), 11 (1), 12 (1), 15 (1), 17 (2)
YEŞİL-KAHVERENGİ	4	2 (2), 15 (1), 17 (1)
TOPLAM	21	21

Meropenem, İmipenem, Seftazidim, Piperasilin, Amikasin, Netilmisin, Gentamisin, Ofloksasin, Siprofloksasin, Piperasilin-Tazobaktam, Aztreonam, Tikarsilin-Sulbaktam ve Tobramisin antibiyotiklerinin duyarlılıkları çalışılmış olup 56 farklı direnç fenotipi saptanmıştır. İzole edilen toplam 107 *P.aeruginosa* suşunun 37'si (% 35) tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. Tüm çalışılan antibiyotiklere duyarlı suşlar, 15 hasta arasında dağılmış olup (hasta no: 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19); 3 hastadan (hasta no: 5, 7, 16) izole edilen bütün suşlarda antibiyotik direnci ya da orta duyarlılığı görülmüştür. İzole edilen *P.aeruginosa* suşlarının; örnek alınma dönemleri ve fenotipik özellikleri tabloda özetlenmiştir (Tablo 47)

Tablo 47.

Hasta no	Suş no	Dönem no	M/ N	Pg	Mm	Ipm	S	P	A	N	G	Of	C	PT	AZT	T S	T
1	1	1	N	-	H	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H
1	2	1	N	+	H	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H
1	3	2	N	+	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
1	4	2	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
1	5	3	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
1	6	3	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
1	7	3	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
2	8	1	M	+	H	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H
2	9	1	N	+	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
2	10	1	N	+	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
2	11	2	M	+	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
3	12	1	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
3	13	1	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
3	14	2	M	-	H	H	H	H	H	H	H	D	O	H	H	H	H
3	15	3	N	+	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
3	16	3	N	+	H	H	H	O	H	H	H	H	H	H	H	H	H
3	17	3	M	-	H	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H
4	18	1	N	+	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H
4	19	2	M	-	H	H	D	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
4	20	2	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
4	21	3	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	O	O	H
4	22	3	N	-	H	H	O	D	D	H	D	H	H	H	D	D	H

5	23	1	M	-	H	H	H	H	O	O	O	D	H	H	H	H	H
5	24	2	M	-	H	H	O	O	D	D	D	H	H	H	H	O	D
5	25	2	N	-	H	H	D	O	D	O	D	H	H	H	H	H	O
5	26	3	N	-	H	H	H	H	D	D	D	H	H	H	H	D	D
5	27	3	M	-	H	H	O	H	D	H	D	H	H	H	H	H	D
5	28	3	N	+	H	H	D	D	D	D	D	D	O	O	H	O	O
6	29	1	N	+	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
6	30	1	N	-	D	O	O	D	H	H	H	D	O	H	H	H	H
6	31	2	M	-	H	H	D	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
6	32	3	M	-	H	H	D	H	O	H	H	O	H	O	H	H	H
6	33	3	N	-	H	H	H	H	H	H	H	D	O	H	H	H	H
7	34	1	N	-	H	H	O	D	D	H	D	O	H	H	H	O	H
7	35	2	M	-	D	D	D	D	H	H	H	D	D	O	O	D	H
7	36	2	M	-	D	D	H	H	D	D	D	O	O	H	H	H	D
7	37	3	M	-	D	D	D	D	O	H	D	D	D	D	D	D	H
7	38	3	N	-	D	D	D	D	O	H	H	D	O	D	O	D	H
8	39	1	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
8	40	1	M	-	H	H	H	H	D	O	O	H	H	H	H	D	H
8	41	2	M	-	O	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H
8	42	2	M		H	H	H	H	H	O	H	H	H	O	H	D	H
8	43	3	N	-	H	H	H	H	D	H	O	O	O	H	H	H	H
8	44	3	M	-	H	H	D	O	H	H	H	D	O	O	D	D	H
9	45	1	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
9	46	2	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
9	47	2	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
9	48	3	M	-	H	H	H	D	D	O	D	O	H	H	H	O	O

9	49	3	M	-	H	H	H	H	D	D	D	O	H	H	H	H	D
10	50	1	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
10	51	2	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
11	52	1	M	-	H	H	D	H	H	H	H	H	H	H	O	D	H
11	53	1	M	+	H	H	D	H	H	H	H	O	H	H	O	O	H
11	54	1	M	-	H	H	D	O	H	H	H	H	H	H	O	O	H
11	55	2	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
11	56	2	N	+	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
11	57	3	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	D	H	H	O	H
11	58	3	N	-	H	H	H	O	O	H	D	D	O	H	H	H	H
12	59	1	N	-	H	H	H	H	O	H	O	H	H	H	H	H	H
12	60	1	M	-	H	H	H	H	O	H	O	H	H	H	H	H	H
12	61	1	M	+	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
12	62	2	M	-	H	H	H	H	D	H	O	H	H	H	H	H	O
12	63	2	M	-	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H	H
12	64	2	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
12	65	3	M	+	H	H	H	H	D	D	D	H	H	H	H	H	O
12	66	3	M	+	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H	H
13	67	1	N	-	H	H	D	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H
13	68	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
13	69	2	M	-	O	D	D	O	O	H	H	O	H	O	D	D	H
13	70	2	N	-	H	H	D	D	D	D	D	D	O	D	D	D	D
13	71	3	N	-	H	H	H	O	H	H	H	H	H	O	H	D	O
14	72	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
14	73	1	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
14	74	2	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

14	75	2	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
14	76	2	N	-	H	H	H	H	D	O	D	H	H	H	H	H	H
14	77	3	M	-	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H	H	H	H
14	78	3	M	-	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H	H
14	79	3	N	-	H	H	H	O	O	H	O	O	H	H	H	H	H
15	80	1	N	+	H	H	H	O	D	H	D	H	H	H	H	H	H
15	81	1	M	-	H	H	H	H	D	H	O	H	H	H	H	H	H
15	82	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
15	83	2	M	-	H	D	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
15	84	2	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
15	85	2	N	+	H	H	H	H	D	D	D	H	H	H	H	H	O
15	86	3	N	-	H	H	D	O	D	D	D	H	H	H	H	H	O
15	87	3	N	-	D	D	H	D	H	H	H	H	H	H	O	H	H
15	88	3	M	-	D	D	H	D	O	H	D	O	H	H	H	O	H
16	89	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	O	H
16	90	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H
16	91	2	N	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H
16	92	2	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H
16	93	3	M	-	H	H	H	O	H	H	H	H	H	O	O	O	H
17	94	1	N	+	H	H	H	H	D	D	D	H	H	H	H	H	R
17	95	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
17	96	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	O	H
17	97	1	N	+	H	H	H	H	D	D	D	H	H	H	H	H	D
17	98	2	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
17	99	2	N	-	H	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	D	H
17	100	3	N	-	H	H	H	H	H	H	O	D	H	H	H	O	H

17	101	3	N	+	H	H	D	O	D	D	D	H	H	H	H	O	H
17	102	3	M	-	H	H	H	O	H	H	H	H	H	H	H	H	H
19	103	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
19	104	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
19	105	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
19	106	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
19	107	1	M	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

D: Dirençli, H: Hassas, O: Orta-duyarlı, M: Mukoid, N: Nonmukoid, Pg: Pigment, Mm: Meropenem, Ipm: İmipenem, S: Seftazidim, P: Piperasilin, A: Amikasin, N: Netilmisin, G:Gentamisin, Of: Ofloksasin, C: Siprofloksasin, PT: Piperasilin-Tazobaktam, AZT: Aztreonam, TS: Tikarsilin-Sulbaktam, T: Tobramisin

Tüm antibiyotiklere hassas olan 37 suşun; 19'unun mukoid, 18'inin mukoid olmayan koloni morfolojisinde olduğu görülmüştür. Çalışılan antibiyotiklere dirençli ve /veya orta duyarlı olan 70 suş incelendiğinde 39'unun mukoid, 31'inin mukoid olmayan koloni morfolojisinde olduğu dikkat çekmiştir (Tablo 48).

Tablo 48. Antibiyotik Duyarlılıklarına göre Mukoid ve Mukoid Olmayan Suşların Dağılımı

	Mukoid		Mukoid Olmayan		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Tüm Antibiyotiklere Duyarlı Suşlar	19	51,4	18	48,6	37	100
Antibiyotiklere Orta-duyarlı ve/veya Dirençli suşlar	39	55,7	31	44,3	70	100
Toplam	58	54,2	49	45,8	107	100

Her iki grupta da mukoid suş sayısı daha fazla olup, aradaki fark dirençli ve /veya orta duyarlı suşların olduğu grupta daha fazla saptanmıştır.

Antibiyotik direnç fenotiplerinin hastalara dağılımı heterojen olup; bazı direnç fenotipleri birden fazla hastada karşımıza çıkmaktadır. Direnç fenotipleri ayrıntılı incelendiğinde 3. direnç fenotipinin 3 hastada ortak olduğu, bu direnç fenotipinin 16. hastanın 3 suşunda da bulunduğu gözlenmiştir. Onuncu ve 19. hastalarda hiç dirençli suş izole edilmemiştir. Hastalar arasında ve aynı hastada birden fazla suшта ortak olarak görülen antibiyotik direnç fenotiplerinin dağılımı tablo şeklinde özetlenmiştir (Tablo 50)

Tablo 50. Antibiyotik Direnç Fenotiplerinin Dağılımı 1

Antibiyotik Direnç Fenotip No	Hasta Sayı (n)	Hasta no	Şuş no
2	3	1, 2, 3	2, 9, 17
3	3	4, 11, 16	18, 57, 90, 91, 92
5	2	6, 15	31, 83
6	2	12, 14	63, 66, 78
8	2	3,17	16, 102
9	2	3, 6	14, 33
11	1	12	59, 60
31	2	12, 15	65, 85
33	1	17	94, 97

(Tüm antibiyotik direnç fenotiplerinin dağılımı EKLER bölümündedir.)

Hastalara göre antibiyotik direnç fenotip dağılımı ise başka bir tabloda özetlenmiştir (Tablo 51).

Tablo 51. Antibiyotik Direnç Fenotiplerinin Dağılımı 2

Hasta no	Suş no	Suş Sayı (n)	Antibiyotik Direnç Fenotip no	Antibiyotik Direnç Fenotip Sayı (n)
1	1,2	2	1,2	2
2	9	1	2	1
3	14, 16, 17	3	9, 8, 2	3
4	18, 19, 21, 22	4	3, 4, 22, 43	4
5	23, 24, 25, 26, 27, 28	6	25, 46, 42, 37, 26, 53	6
6	30, 31, 32, 33	4	40, 5, 34, 9	4
7	34, 35, 36, 37, 38	5	41, 51, 50, 55, 54	5
8	40, 41, 42, 43, 44	5	27, 10, 17, 28, 48	5
9	48,49	2	47, 38	2
11	52, 53, 54, 57, 58	5	18, 29, 30, 3, 39	5
12	59, 60, 62, 63, 65, 66	6	11, 19, 6, 31	4
13	67, 69, 70, 71	4	15, 52, 56, 23	4
14	76, 77, 78, 79	4	20, 7, 6, 32	4
15	80, 81, 83, 85,86, 87, 88	7	21, 12, 5, 31, 44, 35, 49	7
16	89, 90, 91, 92, 93	5	13, 3, 36	3
17	94, 96, 97, 99, 100, 101, 102	7	33, 16, 33, 14, 24, 45, 8	6

Antibiyoqram ile *P.aeruginosa* suşlarının en duyarlı olduğu antibiyotiklerin İmipenem, Siprofloksasin, Piperasilin-Tazobaktam, Tobramisin olduğu saptanmış olup; diğerk antibiyotiklerin duyarlılık sırası Aztreonam, Netilmisin, Piperasilin, Seftazidim, Meropenem, Ofloksasilin, Tikarsilin-Sulbaktam, Amikasin, Gentamisin şeklindedir.

Klinikte sık kullanılan antibiyotikler olan, İmipenem’e duyarlı *P.aeruginosa* şus sayısı 96 olup; diğerk antibiyotiklerin duyarlı suş sayısına göre sırası, Siprofloksasin (95), Piperasilin-Tazobaktam (95), Tobramisin (92), Netilmisin (89), Seftazidim (88), Meropenem (80), Amikasin (74), Gentamisin (73) şeklindedir.

Tüm çalışılan antibiyotiklere duyarlı *P.aeruginosa* suş sayısı en fazla 1 ve 19 no’lu hastalarda saptanmış olup; 1 no’lu hastanın 7 suşundan 5’i (% 71,4), 19 no’lu hastanın 5 suşundan 5’i (% 100) de tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur (Tablo 52)

Tablo 52. Tüm Antibiyotiklere Duyarlı Suş Sayısı ve Hastalara Dağılımı

Hasta no	Toplam Suş Sayı (n)	Tüm Antibiyotiklere Duyarlı Suş Sayı (n)	Tüm Antibiyotiklere Duyarlı Suş Sayı (%)
1	7	5	71,4
2	4	3	75
3	6	3	50
4	5	1	20
5	6	0	0
6	5	1	20
7	5	0	0
8	6	1	16,7
9	5	3	60
10	2	2	100
11	7	2	28,6
12	8	2	25
13	5	1	20
14	8	4	50
15	9	2	22,2
16	5	0	0
17	9	2	22,2
19	5	5	100

Tobramisin direnci ise, 5 no'lu hastanın 6 suşundan 4'ünde (% 66.6), 7 no'lu hastanın 1 suşunda (% 20), 9 no'lu hastanın 1 suşunda (% 20), 13 no'lu hastanın 1 suşunda (% 20), 17 no'lu hastanın 2 suşunda (% 22.2) saptanmıştır.

Tobramisine orta duyarlı suşlar incelendiğinde; 5 no'lu hastanın 1 suşunda (% 16,7), 9 no'lu hastanın 1 suşunda (%20), 12 no'lu hastanın 2 suşunda (%25), 15 no'lu hastanın 2 suşunda (% 22.2) saptanmıştır.

Bu hastaların tobramisine duyarlı *P.aeruginosa* suş sayıları; 5 no'lu hastada 1 (% 16, 7); 7 no'lu hastada 1 (% 20), 9 no'lu hastada 3 (% 60), 12 no'lu hastada 6 (% 75), 13 no'lu hastada 4 (% 80) , 15 no'lu hastada 7 (% 77,8), 17 no'lu hastada 7 (% 77,8)' dir.

Suşların koloni morfolojileri, pigment özellikleri, antibiyotik direnç fenotipleri birlikte değerlendirildiğinde 73 fenotip saptanmıştır. Hastalarımızdan elde edilen *P.aeruginosa* suşlarının en sık 5. fenotip özelliğini gösterdiği bulunmuştur. Beşinci fenotip mukoid koloni morfolojisinde olup, pigment üretmeyen ve antibiyotik direnci ya da orta duyarlılığı göstermeyen suşları içermektedir.

Tablo 53. Fenotiplerin Hastalara, Dönemlere ve Suşlara göre Dağılımı

Fenotip No	Fenotip		Hasta No (hasta sus sayı)	Hasta Sayı	Dönem No	Suş No	Suş Sayı
	M/N, P	Direnç Fenotipi					
1	N	1	1	1	1	1	1
2	M, SY	2	1	1	1	2	1
3	N, Kr	-	1 (1), 11 (1)	2	2	3,56	2
4	N	-	1 (3), 3 (2), 4 (1), 8 (1), 9 (2), 10 (2), 12 (1), 14 (1)	8	1, 2, 3	4, 5, 7, 12, 13, 20, 39, 45, 47, 50, 51, 64, 73	13
5	M	-	1 (1), 9 (1), 11 (1), 13 (1), 14 (3), 15 (2), 17 (2), 19 (5)	8	1, 2, 3	6, 46, 55, 68, 72, 74, 75, 82, 84, 95, 98, 103, 104, 105, 106, 107	16
6	M, Kh	-	2 (1), 12 (1)	2	1	8, 61	2
7	N, YKh	2	2 (1)	1	1	9	1
8	N, YKh	-	2 (1)	1	1	10	1
9	M,Y	-	2 (1)	1	2	11	1
10	M	9	3 (1)	1	2	14	1
11	N, Y	8	3 (1)	1	3	16	1
12	N, Y	-	3 (1), 6 (1)	2	1, 3	15, 29	2
13	M	2	3 (1)	1	3	17	1
14	N, Y	3	4 (1)	1	1	18	1
15	M	4	4 (1)	1	2	19	1
16	M	22	4 (1)	1	3	21	1

17	N	43	4 (1)	1	3	22	1
18	M	25	5 (1)	1	1	23	1
19	M	46	5 (1)	1	2	24	1
20	N	42	5 (1)	1	2	25	1
21	N	37	5 (1)	1	3	26	1
22	M	26	5 (1)	1	3	27	1
23	N, KhKr	53	5 (1)	1	3	28	1
24	N	40	6 (1)	1	1	30	1
25	M	5	6 (1), 15 (1)	2	2	31, 83	2
26	M	34	6 (1)	1	3	32	1
27	M	9	6 (1)	1	3	33	1
28	M	41	7 (1)	1	1	34	1
29	M	51	7 (1)	1	2	35	1
30	M	50	7 (1)	1	2	36	1
31	M	55	7 (1)	1	3	37	1
32	M	54	7 (1)	1	3	38	1
33	M	27	8 (1)	1	1	40	1
34	M	10	8 (1)	1	2	41	1
35	M	17	8 (1)	1	2	42	1
36	N	28	8 (1)	1	3	43	1
37	M	48	8 (1)	1	3	44	1
38	M	47	9 (1)	1	3	48	1
39	M	38	9 (1)	1	3	49	1
40	M	18	11 (1)	1	1	52	1
41	M, Y	29	11 (1)	1	1	53	1
42	M	30	11 (1)	1	1	54	1

43	M	3	11 (1), 16 (2)	2	1, 2, 3	57, 90, 92	3
44	N	11	12 (1)	1	1	59	1
45	M	11	12 (1)	1	1	60	1
46	M	19	12 (1)	1	2	62	1
47	M	6	12 (1), 14 (1)	2	2, 3	63, 78	2
48	M, Y	31	12 (1)	1	3	65	1
49	M, Kh	6	12 (1)	1	3	66	1
50	N	15	13 (1)	1	1	67	1
51	M	52	13 (1)	1	2	69	1
52	N	56	13 (1)	1	2	70	1
53	N	23	13 (1)	1	3	71	1
54	N	20	14 (1)	1	2	76	1
55	M	7	14 (1)	1	3	77	1
56	N	32	14 (1)	1	3	79	1
57	N, Y	21	15 (1)	1	1	80	1
58	M	12	15 (1)	1	1	81	1
59	N,YKh	31	15 (1)	1	2	85	1
60	N	44	15 (1)	1	3	86	1
61	N	35	15 (1)	1	3	87	1
62	M	49	15 (1)	1	3	88	1
63	M	13	16 (1)	1	1	89	1
64	N	3	16 (1)	1	2	91	1
65	M	36	16 (1)	1	3	93	1
66	N, YKh	33	17 (1)	1	1	94	1
67	N	16	17 (1)	1	1	96	1
68	N, Y	33	17 (1)	1	1	97	1

69	N	14	17 (1)	1	2	99	1
70	N	24	17 (1)	1	3	100	1
71	N, Y	45	17 (1)	1	3	101	1
72	M	8	17 (1)	1	3	102	1
73	N	39	11 (1)	1	3	58	

M: mukoid, N: mukoid olmayan, P: pigment, SY: sarı-yeşil, Kh: Kahverengi, Kr: Kırmızı

Çalışmaya alınan hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* suşları; ‘PFGE’ (Değişken Alanlı Jel Elektroforezi) yöntemi ile toplam 48 genotipe ayrılmıştır. Birinci hastanın suşları gnotiplendirilememiştir.. Diğer onyediyi hastadan izole edilen, 100 suşun oluşturduğu, 48 genotip irdelendiğinde; bazı genotipler birden fazla hastada (genotip I, VIII, XII, XVI, XX, XXII, XXIII, XXIV, XXVII, XXXIII); bazı genotipler ise birden fazla suşta (I, III, VIII, X, XI, XII, XIV, XVI, XVIII, XIX, XX, XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXVII, XVIII, XXXIII, XXXIV, XXXV, XXXVIII, XL, XLI, XLVIII) görülmüştür.

Sadece bir hastanın, birden fazla suşunda saptanan genotip sayısı 15 (III, X, XI, XIV, XVIII, XIX, XXI, XXV, XXVIII, XXXIV, XXXV, XXXVIII, XL, XLI, XLVIII) olup; 15 no’lu hastanın bütün suşlarının aynı genotipe ait olduğu dikkat çekmiştir. Birden fazla hastada ve bir hastada birden fazla suşta saptanan genotip sayısı 5 (XII, XVI, XX, XXII, XXIV).

Sadece bir hastanın bir suşunda saptanan genotip sayısı 23 saptanmıştır.

Tablo 54. Hastaların Genotip Sayı ve Genotip Numaraları

Hasta no	1. Dönem Genotip		2. Dönem Genotip		3. Dönem Genotip	
	Sayı (n)	No (Suş Sayı)	Sayı (n)	No (Suş Sayı)	Sayı (n)	No (Suş Sayı)
1	0	-	0	-	0	-
2	1	XXXVIII (3)	1	XXXIX (1)	0	-
3	2	XII (1) , XXXVI (1)	1	XII (1)	2	III (2) , XLVII (1)
4	1	XVII (1)	2	XII (1), XXIV (1)	2	XXII (1), XV (1)
5	1	XLII (1)	1	XLI (2)	2	XXV (2), XXX (1)
6	2	I (1), XIII (1)	1	XXIV (1)	1	XXIV (2)
7	1	II (1)	1	XLVIII (2)	1	XI (2)
8	2	I (1), XXXIII (1)	2	XXX(1), XXXII (1)	2	XXXIII(1) , XXIX (1)
9	1	IV (1)	1	XX (2)	1	XXI (2)
10	1	VII (1)	1	XVI (1)	0	-
11	3	V (1), IX (1), VIII (1)	1	XVI (2)	2	XXVI (1), XXXV (1)
12	1	XL (3)	2	XXXIV(2), XLVI (1)	2	XXXV(1), XXVII (1)
13	2	VIII (1), XVII (1)	2	XXIII (1), XLV (1)	1	XXXVII (1)
14	2	XXIV (1) , XX (1)	3	XXIV (1) , XX (1) , XIV (1)	2	XIV (2) , XXVII (1)
15	1	X (3)	1	X (3)	1	X (3)
16	1	XXII (1)	2	XXVIII (1) , XXIII (1)	1	XXVIII (1)
17	2	XVIII (3) , XLIII (1)	1	XVIII (2)	1	XIX (3)
19	2	XXII (1), VI (1)	2	XLIV (1), XXIV (2)		XXIV (1)

Dönemlere göre hastalarda saptanan genotipler incelendiğinde; 6 (genotip XXIV), 14 (genotip XIV), 16 (genotip XXVIII), 19 (genotip XXIV) no'lu hastalarda bir genotipin 2. ve 3. dönemlerde görüldüğü; 3 (genotip XII), 14 (genotip XX, genotip XXIV), 17 (genotip XVIII) no'lu hastalarda bir genotipin 1. ve 2. dönemlerde görülüp 3. dönemde kaybolduğu; 8 (genotip XXXIII) no'lu hastada bir genotipin 1. dönemde görülüp 2. dönemde kaybolduğu 3. dönemde tekrar açığa çıktığı; 15 no'lu hastada bir genotipin tüm çalışma dönemlerinde görüldüğü gözlenmiştir.

En fazla sayıda hastada ve her dönemde görülen genotip 24 olup; 4 no'lu hastada sadece 2. dönemde, 6 no'lu hastada 2. dönemde 1suşt, 3 dönemde 2 suşt; 14 no'lu hastada 1. ve 2. dönemlerde birer suşt; 19 no'lu hastada 2. ve 3. dönemlerde birer suşt saptanmıştır.

Tablo 55. Genotiplerin Hastalara, Dönemlere, Suşlara göre Dağılımı

Genotip	Hasta no	Dönem no	Suş no (dönem no) [hasta no]	Toplam Hasta Sayı	Tüm Dönem no	Suş Sayı	Toplam Dönem no
I	6, 8	1	29, 39	2	1	2	1
II	7	1	34	1	1	1	1
III	1	3	16, 17	1	3	2	1
IV	9	1	45	1	1	1	1
V	11	1	52	1	1	1	1
VI	19	1	104	1	1	1	1
VII	10	1	50	1	1	1	1
VIII	11, 13	1	54, 67	2	1	2	1
IX	11	1	53	1	1	1	1
X	15	1, 2, 3	80, 81, 82 (1); 83, 84, 85 (2); 86, 87, 88 (3)	1	1, 2, 3	9	3
XI	7	3	37, 38	1	3	2	1
XII	3	1, 2	12 (1), 14 (2)	2	1, 2	3	2
	4	2	19 (2)				
XIII	6	1	30	1	1	1	1
XIV	14	2, 3	74 (2); 77, 79 (3)	1	2, 3	3	2
XV	4	3	22	1	3	1	1
XVI	10, 11	2	51 [10.hasta] 55, 56 [11.hasta]	2	2	3	1
XVII	4	1	18	1	1	1	1

XVIII	17	1, 2	94, 95, 96 (1); 98, 99 (2)	1	1, 2	5	2
XIX	17	3	100, 101, 102	1	3	3	1
XX	9	2	46, 47	2	1, 2	4	2
	14	1, 2	73 (1); 76 (2)				
XXI	9	3	48, 49	1	3	2	1
XXII	16, 19	1	89, 90, 103 [19.hasta]	3	1, 3	4	2
	4	3	21				
XXIII	16, 13	2	92, 69	2	2	2	1
XXIV	4	2	20	4	1, 2, 3	8	3
	6	2, 3	31 (2); 32, 33 (3)				
	14	1,2	72 (1), 75 (2)				
	19	2, 3	106; 107 (3)				
XXV	5	3	27, 28	1	3	2	1
XXVI	11	3	57	1	3	1	1
XXVII	12	3	66	3	1, 3	3	2
	13	1	68				
	14	3	78				
XXVIII	16	2, 3	91 (2), 93 (3)	1	2, 3	2	2
XXIX	8	3	44	1	3	1	1
XXX	5	3	26	1	3	1	1
XXXI	8	2	41	1	2	1	1
XXXII	8	2	42	1	2	1	1
XXXIII	8	1, 3	40 (1), 43 (3)	1	1, 3	2	2
XXXIV	12	2	62, 64	1	2	2	1

XXXV	11, 12	3	65, 58	2	3	2	1
XXXVI	3	1	13	1	1	1	1
XXXVII	13	3	71	1	3	1	1
XXXVIII	2	1	8, 9, 10	1	1	3	1
XXXIX	2	2	11	1	2	1	1
XL	12	1	59, 60, 61	1	1	3	1
XLI	5	2	24, 25	1	2	2	1
XLII	5	1	23	1	1	1	1
XLIII	17	1	97	1	1	1	1
XLIV	19	2	105	1	2	1	1
XLV	13	2	70	1	2	1	1
XLVI	12	2	63	1	2	1	1
XLVII	3	3	15	1	3	1	1
XLVIII	7	2	35, 36	1	2	2	1

Şuşların fenotipik özellikleri ve genotipleri birlikte incelendiğinde; çalışılan tüm antibiyotiklere hassas genotip sayısı 20 (I, IV, VI, VII, X, XII, XIV, XVI, XVIII, XX, XXII, XXIV, XXVII, XXXIV, XXXVI, XXXVIII, XXXIX, XL, XLIV, XLVII) olup; 9 genotipin sadece mukoid suşlar, 7 genotipin sadece mukoid olmayan suşlar, 4 genotipin ise her iki morfolojide suşlar içerdiği görülmüştür. Belirtilen genotipler toplam 32 şuş (18 mukoid, 14 mukoid olmayan) içermekte iken; çalışılan tüm antibiyotiklere hassas diğer 5 şuş 1 no'lu hastanın genotiplendirilemeyen suşlarıdır.

Dirençli ya da orta duyarlı olduğu daha önce belirtilmiş olan 70 şuşun 2'si (2 mukoid olmayan) 1 no'lu hastaya ait olup genotiplendirilememiştir; diğer 68 şuş (39 mukoid, 29 mukoid olmayan) ise 39 genotipe dağılmıştır. Çalışılan tüm antibiyotiklere hassas ve dirençli

ya da orta duyarlı suşları birlikte içeren toplam 11 genotip (X, XII, XIV, XVIII, XX, XXII, XXIV, XXVII, XXXIV, XXXVIII, XL) saptanmış olup, toplam suş sayısı 27 (16 mukoid, 11 mukoid olmayan)'dır. Sadece dirençli ve/veya orta duyarlı suşların bulunduğu grupta toplam genotip sayısı 28, grupta bu genotiplerin dağıldığı suş sayısı 41 (23 mukoid, 18 mukoid olmayan) saptanmıştır. Çalışılan antibiyotiklere dirençli ya da orta-duyarlı hiçbir suş içermeyen genotipler ise; I, IV, VI, VII, XVI, XXXVI, XXXIX, XLIV, XLVII' dir.

Suşların genotip fenotip uyumu araştırıldığında; genotip 24'ün 4 suşunun, genotip 20'nin 2 suşunun, genotip 18'in 2 suşunun, genotip 10'un 2 suşunun fenotipik özelliklerinin ve genotiplerinin ayırt edilemez olduğu bulunmuştur. Diğer bir bulgu ise fenotipik özellikleri ve genotipleri ayırt edilemez olan 4 suşun (genotip 24, fenotip 5) 14 ve 19 no'lu hastalarda; 2 suşun 14 ve 9 no'lu hastalarda olmak üzere farklı hastalar arasında paylaşıldığıdır (Tablo 56).

Tablo 56. Genotipe göre Fenotip Dağılımı

Genotip No	Hasta No	Hasta Sayı	Suş No	Dönem No	Dönem Sayı	Suş Sayı	Fenotip No	Fenotip Sayı
I	6, 8	2	29, 39	1	1	2	4, 12	2
II	7	1	34	1	1	1	28	1
III	3	1	16, 17	3	1	2	11, 13	2
IV	9	1	45	1	1	1	4	1
V	11	1	52	1	1	1	40	1
VI	19	1	104	1	1	1	5	1
VII	10	1	50	1	1	1	4	1
VIII	11, 13	2	54, 67	1	1	2	41, 50	2

XIX	11	1	53	1	1	1	41	1
X	15	1	80, 81, 82*, 83, 84*, 85, 86, 87, 88	1, 2, 3	3	9	57, 58, 5*, 25, 59, 60, 61, 62	8
XI	7	1	37, 38	3	1	2	31, 32	2
XII	3, 4	2	12, 14, 19	1, 2	2	3	4, 10, 15	3
XIII	6	1	30	1	1	1	24	1
XIV	14	1	74, 77, 79	2, 3	2	3	5, 55, 56	3
XV	4	1	22	3	1	1	17	1
XVI	10, 11	2	51, 55, 56	2	1	3	4, 5, 3	3
XVII	4	1	18	1	1	1	14	1
XVIII	17	1	94, 95*, 96, 98*, 99	2	1, 2	5	66, 5*, 67, 69	4
XIX	17	1	100, 101, 102	3	1	3	70, 71, 72	3
XX	9, 14	2	46, 47*, 73*, 76	1, 2	2	4	4, 5, 54	3
XXI	9	1	48, 49	3	1	2	38, 39	2
XXII	16, 19, 4	3	89, 90, 103, 21	1, 3	2	4	63, 43, 5, 16	4
XXIII	13, 16	2	92, 69	2	1	2	43, 51	2
XXIV	4, 6, 14, 19	4	20, 31, 32, 33, 72*, 75*, 106*, 107*	1, 2, 3	3	8	4, 25, 26, 27, 5*	5
XXV	5	1	27, 28	3	1	2	22, 23	2
XXVI	11	1	57	3	1	1	43	1
XXVII	12, 13, 14	3	66, 68, 78	1, 3	2	3	49, 5, 47	3
XXVIII	16	1	91, 93	2, 3	2	2	64, 65	2
XXIX	8	1	44	3	1	1	37	1
XXX	5	1	26	3	1	1	21	1
XXXI	8	1	41	2	1	1	34	1

XXXII	8	1	42	2	1	1	35	1
XXXIII	8	1	40, 43	1, 3	2	2	33, 36	2
XXXIV	12	1	62, 64	2	1	2	46, 4	2
XXXV	12, 11	2	65, 58	3	1	2	48, 73	2
XXXVI	3	1	13	1	1	1	4	1
XXXVII	13	1	71	3	1	1	53	1
XXXVIII	2	2	8, 9, 10	1	1	3	6, 7, 8	3
XXXIX	2	1	11	2	1	1	9	1
XL	12	1	59, 60, 61	1	1	3	44, 45, 6	3
XLI	5	1	24, 25	2	1	2	19, 20	2
XLII	5	1	23	1	1	1	18	1
XLIII	17	1	97	1	1	1	68	1
XLIV	19	1	105	2	1	1	5	1
XLV	13	1	70	2	1	1	52	1
XLVI	12	1	63	2	1	1	47	1
XLVII	3	1	15	3	1	1	12	1
XLVIII	7	1	35, 36	2	1	2	29, 30	2

*Fenotipi aynı, genotipleri benzer olan suşlar, *Fenotipi aynı ve genotipleri benzer olan farklı hastalara ait suşlar

Hastalar ayrı ayrı irdelendiğinde;

1 no' lu hasta: Üç dönemde izole edilen toplam suş sayısı 6 olup, PFGE ile genotiplendirilememiştir.

2 no' lu hasta: Birinci dönemde 3 suş, ikinci dönemde 1 suş izole edilmiştir. Üçüncü dönemde üreme olmamıştır. Birinci dönemde izole edilen 3 suş benzer genotipte olup, bunlardan 2 suşun genotip yapısı birbirinden ayırt edilemeyecek derecede benzerdir. İkinci dönem izole edilen suş genotip ve fenotip özellikleri ile diğer suşlardan farklıdır. Benzer

fenotipte suş rastlanmamıştır. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 3, genotipi ve fenotipi farklı suş sayısı 1'dir

3 no' lu hasta: Birinci dönemde 2 suş, ikinci dönemde 1 suş, üçüncü dönemde 3 suş izole edilmiştir. Birinci dönemde izole edilen birinci suşun genotipi ikinci dönemde izole edilen suşla benzer olup fenotipleri farklı saptanmıştır. Birinci dönemde izole edilen suşların genotipleri farklı olsa da fenotipleri aynı; birinci dönemde izole edilen ikinci suşun hem genotipi hem de fenotipi ikinci dönemde izole edilen suştan farklı bulunmuştur. Üçüncü dönemde izole edilen suşlardan ikisinin genotipleri birbirleri ile benzer; diğer suşun genotipi, bu hastadan tüm çalışma döneminde izole edilen suşlarla tamamen farklı bulunmuştur. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 4; fenotipleri aynı, genotipleri farklı suş sayısı 2; genotipi ve fenotipi farklı suş sayısı 2'dir.

4 no' lu hasta: Birinci dönemde 1 suş, ikinci dönemde 2 suş, üçüncü dönemde 2 suş izole edilmiştir. Benzer genotipte ya da fenotipte suş saptanmamıştır. Genotipi ve fenotipi farklı suş sayısı 5'tir.

5 no' lu hasta: Birinci dönemde 1 suş, ikinci dönemde 2 suş, üçüncü dönemde 3 suş izole edilmiştir. İkinci dönemde izole edilen 2 suşun birbiri ile 3. dönemde izole edilen 2 suşun birbiri ile genotipleri benzer bulunmuştur. Birinci dönemde izole edilen suşun diğerlerinden tamamen farklı olduğu görülmüştür. Herbir suşun fenotipi farklılık göstermiştir. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 4, genotipi ve fenotipi farklı suş sayısı 2'dir.

6 no' lu hasta: Birinci dönemde 2 suş, ikinci dönemde 1 suş, üçüncü dönemde 2 suş izole edilmiştir. Üçüncü dönemde izole edilen 2 suşun ve ikinci dönemde izole edilen 1 suşun genotipleri benzer bulunmuştur. Ayrıca üçüncü dönemde izole edilen 2 suşun genotiplerinin birbirinden ayırt edilemeyecek derecede benzer olduğu dikkat çekmiştir. Birinci dönemde izole edilen suşların genotiplerinin ise birbirinden ve diğer suşlardan farklı olduğu

saptanmıştır. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 3, genotipi ve fenotipi farklı suş sayısı 2'dir.

7 no' lu hasta: Birinci dönemde 1 suş, ikinci dönemde 2 suş, üçüncü dönemde 2 suş izole edilmiştir. İkinci dönemde izole edilen 2 suşun birbirleri ile, üçüncü dönemde izole edilen 2 suşun da birbirleri ile benzer genotipte olduğu saptanmıştır. Diğer suşun genotipi ve fenotipi tamamen farklı bulunmuştur. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 4; genotipi ve fenotipi farklı suş sayısı 1'dir.

8 no' lu hasta: Birinci dönemde 2 suş, ikinci dönemde 2 suş, üçüncü dönemde 2 suş izole edilmiştir. Birinci dönemde izole edilen bir suş ile, üçüncü dönemde izole edilen bir suşun genotipleri benzer bulunmuştur. Diğer suşların genotiplerinin ve fenotiplerinin farklı olduğu saptanmıştır. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 2, genotipi ve fenotipi farklı suş sayısı 4'tür.

9 no' lu hasta: Birinci dönemde 1 suş, ikinci dönemde 2 suş, üçüncü dönemde 2 suş izole edilmiştir. İkinci dönemde izole edilen 2 suşun birbirleri ile ayırt edilemeyecek derecede benzer, üçüncü dönemde izole edilen 2 suşun da birbirleri ile benzer genotipte olduğu saptanmıştır. İki suşun genotiplerinin benzer olmamasına rağmen fenotiplerinin aynı olduğu görülmüştür. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 4, fenotipleri aynı genotipleri farklı suş sayısı 2'dir.

10 no' lu hasta: Birinci dönemde 1 suş, ikinci dönemde 1 suş izole edilmiştir. Üçüncü dönemde üreme olmamıştır. İki suşun genotip yapısı birbirinden farklı bulunmuştur. Fenotipleri ise benzer saptanmıştır. Fenotipleri aynı genotipleri farklı suş sayısı 2'dir.

11 no' lu hasta: Birinci dönemde 3 suş, ikinci dönemde 2 suş, üçüncü dönemde 2 suş izole edilmiştir. İkinci dönemde izole edilen suşların genotiplerinin benzer olduğu saptanmıştır.

Tüm suşların fenotipleri birbirinden farklı bulunmuştur. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 2, fenotipleri farklı genotipleri farklı suş sayısı 5'tir.

12 no' lu hasta: Birinci dönemde 3 suş, ikinci dönemde 3 suş, üçüncü dönemde 2 suş izole edilmiştir. Birinci dönemde izole edilen suşların hepsinin benzer genotipte olduğu, ayrıca bu dönemde izole edilen birinci ve ikinci suşların genotiplerinin birbirinden ayırt edilemeyecek derecede benzer olduğu saptanmıştır. İkinci dönemde izole edilen suşlardan ise 2' sinin genotiplerinin benzer olduğu bulunmuştur. Tüm suşların fenotipleri birbirinden farklılık göstermiştir. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 5, genotipleri ve fenotipleri farklı suş sayısı 3' dir.

13 no' lu hasta: Birinci dönemde 2 suş, ikinci dönemde 2 suş, üçüncü dönemde 1 suş izole edilmiştir. Hepsinin genotipleri farklı bulunmuştur. Fenotiplerinin de farklı olduğu görülmüştür. Genotipleri ve fenotipleri farklı suş sayısı 5' tir.

14 no' lu hasta: Birinci dönemde 2 suş, ikinci dönemde 3 suş, üçüncü dönemde 3 suş izole edilmiştir. Üçüncü dönemde izole edilen 1. suş, 3. suş ve ikinci dönemde izole edilen birinci suş genotip yapıları açısından benzer bulunmuştur. İkinci dönemde izole edilen 1. ve üçüncü dönemde izole edilen 3. suşın genotipleri birbirinden ayırt edilemeyecek derecede benzer saptanmıştır. İkinci dönemde izole edilen üçüncü suş ile birinci dönemde izole edilen ikinci suşın da genotipleri birbirinden ayırt edilemeyecek derecede benzer bulunmuştur. Birinci ve ikinci dönemde izole edilen diğer iki suşın ise genotipleri ile birlikte fenotiplerinin de birbiri ile benzer olduğu saptanmıştır. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 5, fenotipleri aynı genotipleri benzer suş sayısı 2, genotipleri ve fenotipleri farklı suş sayısı 1' dir.

15 no' lu hasta: Birinci dönemde 3 suş, ikinci dönemde 3 suş, üçüncü dönemde 3 suş izole edilmiştir. Bütün suşların genotipleri benzer bulunmuştur. Fenotipleri incelendiğinde ise, 7'sinin farklı fenotipte, 2'sinin aynı fenotipte oldukları görülmüştür. Birinci dönemde izole

edilen 2 suşun birbirleri ile, ikinci dönemde izole edilen 2 suşun birbirleri ile, üçüncü dönemde izole edilen bütün suşların birbirleri ile genotip yapıları ayırt edilemeyecek derecede benzer saptanmıştır. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 7, fenotipleri aynı genotipleri benzer suş sayısı 2' dir.

16 no' lu hasta: Birinci dönemde 2 suş, ikinci dönemde 2 suş, üçüncü dönemde 1 suş izole edilmiştir. Birinci dönemde izole edilen suşların genotipleri birbirleri ile benzer bulunmuştur. Ayrıca üçüncü dönemde izole edilen suş ile ikinci dönemde izole edilen bir suş genotip yapıları açısından benzer bulunmuştur. İkinci dönemde izole edilen diğer suş ile birinci dönemde izole edilen bir suşun fenotiplerinin aynı olduğu görülmüştür. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 4; genotipleri farklı, fenotipleri benzer suş sayısı 2' dir.

17 no' lu hasta: Birinci dönemde 4 suş, ikinci dönemde 2 suş, üçüncü dönemde 3 suş izole edilmiştir. Birinci dönemde izole edilen 3 suşun, 2. dönemde izole edilen 2 suşun hepsinin benzer genotipte oldukları saptanmıştır. Üçüncü dönem suşlarının da genotiplerinin birbirleri ile benzer olduğu görülmüştür. Birinci dönemde izole edilen 1. suş ile ikinci dönemde izole edilen 1. suş; birinci dönemde izole edilen 2. suş ile birinci dönemde izole edilen 3. suş; üçüncü dönemde izole edilen 1. suş ile üçüncü dönemde izole edilen 2. suş birbirlerinden ayırt edilemeyecek derecede benzer genotipte bulunmuştur. Birinci dönemde izole edilen bir suşun diğer suşlardan tamamen farklı olduğu bulunmuştur. Birinci dönemde izole edilen bir suş ile, ikinci dönemde izole edilen bir suşun genotiplerinin benzer olması yanında fenotiplerinin de aynı olduğu görülmüştür. Genotipleri benzer, fenotipleri farklı suş sayısı 6; genotipleri benzer, fenotipleri aynı suş sayısı 2; genotipi ve fenotipi farklı suş sayısı 1' dir.

19 no' lu hasta: Birinci dönemde 2 suş, ikinci dönemde 2 suş, üçüncü dönemde 1 suş izole edilmiştir. Üçüncü dönemde izole edilen suş ile, ikinci dönemde izole edilen bir suşun ayırt edilemeyecek derecede benzer genotipte oldukları, tüm suşların ise fenotiplerinin aynı olduğu

saptanmıştır. Genotipleri benzer, fenotipleri aynı suş sayısı 2, genotipleri farklı fenotipleri aynı suş sayısı 3'tür.

Tüm suşlar genotip ve fenotiplerine göre değerlendirildiğinde; genotipleri benzer fenotipleri farklı suş sayısı 49 (%49), genotipleri farklı fenotipleri farklı suş sayısı 15 (%15), genotipleri farklı fenotipleri aynı suş sayısı 26 (%26), genotipleri benzer fenotipleri aynı suş sayısı 10 (%10) saptanmıştır

Birden fazla hastada ve sadece bir hastada saptanan genotiplere göre atak sayıları incelendiğinde; benzer genotipte *P.aeruginosa* suşları ile kolonize hastalarda atak sayılarının daha fazla olduğu görülmüştür. Ancak daha fazla sayıda hastada yapılacak çalışmalar ile bu verinin desteklenmesi gerekmektedir (Tablo 57).

Tablo 57. Genotiplere göre Atak Sayıları 1

Genotip No	Hasta No	Hasta Toplam Atak sayı	Toplam Atak sayı	Hasta Son 1 yıl Atak Sayı	Son 1 yıl Atak Sayı
XXIV	4, 6, 14 19	2, 15, 9, 2	28	1, 1, 1, 0	3
XXVII	12, 13, 14	10, 8, 9	27	3, 1, 1	5
I	6, 8	15, 3	18	1, 1	2
XX	9, 14	5, 9	14	2, 1	3
XXXV	12, 11	10, 3	13	3, 0	3
XVI	10, 11	4, 3	7	0, 0	0
XXII	16, 19, 4	2, 2, 2	6	0, 0, 1	1
XII	3, 4	1, 2	3	0, 1	1
VIII	11, 13	3, 8	11	0, 1	1
XXIII	16, 13	2, 8	10	0,1	1

Tablo 58. Genotiplere göre Atak Sayıları 2

Genotip No	Toplam Atak Sayı	Son 1 yıl Atak Sayı
XIII	15	1
XXXIV, XL, XLVI, XLVIII	10	3, 3, 3, 2
XIV	9	1
XLV, II, XI	8	1, 2, 2
XXI, IV	5	2, 1
VII	4	0
V, XXVI, XXIX, XXXI, XXXII, XXXIII, XLI, XLIII, III, IX, X	3	0, 0, 1, 1, 1, 1, 0, 0, 0, 1
VI, XV, XVII, XXVIII, XXXVII, XLIV	2	0, 1, 1, 1, 1, 0
XVIII, XIX, XXXVI, XXXVIII, XXXIX, XLVII	1	0, 0, 0, 0, 0, 0
XXV, XXX, XLII	0	0, 0, 0

TARTIŞMA

KF, kronik akciğer infeksiyonu, pankreatik yetersizlik, hepatobiliyer hastalık, infertilite, ter klorür konsantrasyonunda artış gibi birçok sistemi etkileyen kalıtsal bir hastalıktır. Kronik akciğer infeksiyonu KF’ de morbidite ve mortalitenin en önemli sebebidir (24-28). Erken tanı, enfeksiyon kontrolü, beslenmenin düzeltilmesi, antibiyotik ve nebulize tedaviler, yaşam beklentisinin uzamasına yardımcı olmuştur. KF’de yaşam süresi ortalama 35.9 yıla ulaşmıştır. (35). Çalışmaya alınan hastalarımızın yaş ortalaması $13 \pm 4,5$ yaş olup, en büyük hastamız 22,08 yaşında, en küçük hastamız ise 1,83 yaşındadır.

Amerika Birleşik Devletleri’nde ortalama tanı yaşı 3,4 yaştır (155). Kliniğimizde daha önce yapılan bir tez çalışmasında tanı konulma yaşı ortalama 3,74 saptanmıştır. Ancak bu çalışmada; kliniği daha hafif olup daha geç dönemde tanı alan olgular da değerlendirilmiştir. Çalışma hastalarımızın tanı konulma yaşı ise 2.59 ± 3.95 yıl (1 ay – 16 yaş) olup literatürde ve kliniğimizde daha önce yapılmış tez çalışmasında bildirilen ortalama yaştan daha küçüktür. Bunun nedeni, çalışmamıza alınan ve balgamında *P.aeruginosa* kolonizasyonu olan hastaların, klinik bulgularının daha ağır ve tipik olması dolayısıyla daha erken tanı almış olmalarıdır. Son yıllarda yenidoğan tarama testleri sayesinde daha erken yaşlarda tanı konulabilmesi mümkün olmaktadır. Sağlık Bakanlığı’nın planladığı ve yakın dönemde Türkiye’de uygulamaya girmesi beklenen yenidoğan tarama testleri sayesinde ülkemizde tanı yaşının daha da düşeceği öngörülmektedir.

Akciğer hastalığının derecesini belirlemek için kullanılan en iyi yöntemlerden birisi FEV1 değerinin ölçümüdür (175, 177). Pediatrik döneme ait bir çalışmada ortalama FEV1 değeri yaş gruplarına göre değişmekle birlikte 78,4, 85,3, 88,4 olarak belirtilmiş; belirli yaş

gruplarında solunum yolu örneklerinde *P.aeruginosa* varlığının FEV1 değerindeki azalma için büyük risk oluşturduğu gösterilmiştir (38).

Çalışmamızda; solunum fonksiyon testi yapılabilen 17 hastanın, birinci dönem FEV 1 değeri % 11,1’inde hafif, % 61,1’inde orta ve % 16,7’sinde ağır; ikinci dönem FEV 1 değeri % 16,7’sinde hafif, % 50’sinde orta ve % 27,8’inde ağır; üçüncü dönem FEV 1 değeri % 5,6’sında hafif, % 55,6’sında orta ve % 33,3’ünde ağır akciğer hastalığı ile uyumlu bulunmuştur. Hastalarımızın ortalama FEV1 değerleri incelendiğinde ise; 1. dönemde $53,8 \pm 14,8$; 2. dönemde $53,8 \pm 14,8$; 3. dönemde $53,8 \pm 14,8$ bulunmuştur. Hastaların çalışma süresince FEV 1 değeri ortalamaları Tablo 36’da verilmiştir.

Tablo 36. Hastaların FEV 1 ortalama değerleri

	FEV 1	
	Ortalama $\pm$ standart sapma	En küçük – en büyük değer
4. Dönem	$53,8 \pm 14,8$	30 - 82
5. Dönem	$53,8 \pm 14,8$	26 - 76
6. Dönem	$53,8 \pm 14,8$	32 - 71

Çalışmamıza sadece kronik *P.aeruginosa* akciğer kolonizasyonu olan hastaların alınmasının, diğer KF hastalarının alınmamasının FEV1 değerlerinin literatürde belirtilen değerlerden düşük olmasına neden olduğu düşünülmüş; akciğerde kronik ve sıklıkla mukoid tipte *P.aeruginosa* varlığının FEV1 değerinde azalma için risk oluşturduğu desteklenmiştir.

Gram negatif, nonfermentatif, fakültatif anaerob bir bakteri olan *P.aeruginosa*; KF’li hastaların kısmen hipoksik akciğerlerinde yaşamını sürdürebilir. KF akciğerlerine kronik olarak yerleştikten sonra *P.aeruginosa* eradikasyon tedavisine dirençli hale gelir (26, 27, 28).

KF' li hastalarda erken dönemde *P.aeruginosa* kolonizasyonu ve infeksiyonu genellikle mukoid olmayan suşlarla olmaktadır. Ancak daha sonra kronik süreçte bakteri mukoid fenotipe değişmekte ve biyofilm oluşturmaktadır.

Çalışmamızda hastalarımızın balgam kültürlerinden toplam 107 *P.aeruginosa* suşu izole edilmiş olup, mukoid suş sayısı (n:58, %58) mukoid olmayan suş sayısından (n:49, %45,8) fazla saptanmıştır. En fazla pigment üreten suş 2 no'lu hastada, en fazla üretilen pigment de yeşil olarak saptanmıştır. Pigment üreten suş sayısı toplam 21 olup, 5 farklı pigment grubuna ayrılmışlardır (Tablo 46).

Tablo 46. Pigment oluşturan *P.aeruginosa* suşlarının pigment gruplarına ve hastalara dağılımı

Pigment	(n)	Hasta no (suş sayısı)
SARI-YEŞİL	1	1(1)
KIRMIZI	2	1 (1), 11(1)
KAHVERENGİ	3	2 (1), 12 (2),
KIRMIZI-KAHVERENGİ	1	5 (1)
YEŞİL	10	2 (1), 3 (2), 4 (1), 6 (1), 11 (1), 12 (1), 15 (1), 17 (2)
YEŞİL-KAHVERENGİ	4	2 (2), 15 (1), 17 (1)
TOPLAM	21	21

Hastaların çalışma süresince solunum örneklerinden elde edilen *P.aeruginosa* izolatlarının dönemlere göre dağılımı tablo 45'te verilmiştir.

Tablo 45. Solunum Örneklerinden Elde Edilen *P.aeruginosa* İzolatlarının Hastalara göre Dağılımı

Hasta No	1.Dönem			2.Dönem			3.Dönem					
	Toplam	M	NM	Toplam	M	NM	Toplam	M	NM	Toplam	M	NM
1	2	0	2	2	0	2	3	1	2	7	1	6
2	3	1	2	1	1	0	0	0	0	4	2	2
3	2	0	2	1	1	0	3	1	2	6	2	4
4	1	0	1	2	1	1	2	1	1	5	2	3
5	1	1	0	2	1	1	3	1	2	6	3	3
6	2	0	2	1	1	0	2	1	1	5	2	3
7	1	0	1	2	2	0	2	1	1	5	3	2
8	2	1	1	2	2	0	2	1	1	6	4	2
9	1	0	1	2	1	1	2	2	0	5	3	2
10	1	0	1	1	0	1	0	0	0	2	0	2
11	3	3	0	2	1	1	2	1	1	7	5	2
12	3	2	1	3	2	1	2	2	0	8	6	2
13	2	1	1	2	1	1	1	0	1	5	2	3
14	2	1	1	3	2	1	3	2	1	8	5	3
15	3	2	1	3	2	1	3	1	2	9	5	4
16	2	2	0	2	1	1	1	1	0	5	4	1
17	4	2	2	2	1	1	3	1	2	9	4	5
19	2	2	0	2	2	0	1	1	0	5	5	0
Toplam	37	18	19	35	22	13	35	18	17	107	58	49

Balgam kültüründe hiç mukoid suş izole edilmeyen hastanın (10 no'lu hasta), en küçük yaştaki hastamız olup 1,83 yaşında olduğu; sadece mukoid suş ile kolonize hastanın (19 no'lu hasta) ise 12,42 yaşında olduğu ve mukoid suşla kolonize hastaların en küçüğü olduğu bulunmuştur. Mukoid suşla kolonize hastaların yaş ortalaması (13,78 yaş), balgam kültüründe mukoid olmayan suş izole edilen hastaların yaş ortalamasından (13,16 yaş) fazla saptanmıştır. Çalışmamızda literatüre benzer şekilde; *P.aeruginosa* ile kolonize hastaların yaşı arttıkça ve

P.aeruginosa kolonizasyonu kronikleştikçe, *P.aeruginosa* suşlarının mukoid özellik kazandıkları görülmüştür.

Kistik fibrozisli hastalarda *P.aeruginosa*'nın eradikasyonu birçok faktör nedeniyle zor olup, en önemli sorunlardan biri antibiyotik direncidir. Çeşitli direnç mekanizmaları ile antimikrobiyal tedavi altında; hızlı, çoklu antibiyotik direnci geliştirmektedir (45, 46, 199, 242, 247, 248, 345). Kromozomal direnç ilişkili genlerde intrinsik değişiklikler ve diğer bakterilerden direnç ilişkili genetik yapıların kazanılması başlıca iki temel mekanizmadır (355, 356).

Çalışmamızda; Meropenem, İmipenem, Seftazidim, Piperasilin, Amikasin, Netilmisin, Gentamisin, Ofloksasin, Siprofloksasin, Piperasilin-Tazobaktam, Aztreonam, Tikarsilin-Sulbaktam ve Tobramisin antibiyotiklerinin duyarlılıkları çalışılmış olup 56 farklı direnç fenotipi saptanmıştır. İzole edilen toplam 107 *P.aeruginosa* suşunun 37'si (% 34,6) tüm antibiyotiklere duyarlı iken 70'i (% 65,4'ü) çalışılan antibiyotiklere dirençli ya da orta-duyarlı bulunmuştur. Tüm antibiyotiklere hassas olan 37 suşun; 19'unun mukoid, 18'inin mukoid olmayan koloni morfolojisinde olduğu görülmüştür. Çalışılan antibiyotiklere dirençli ve /veya orta duyarlı olan 70 suş incelendiğinde 39'unun mukoid, 31'inin mukoid olmayan koloni morfolojisinde olduğu dikkat çekmiştir (Tablo 48).

Tablo 48. Antibiyotik Duyarlılıklarına göre Mukoid ve Mukoid Olmayan Suşların Dağılımı

	M		N		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Tüm Antibiyotiklere Duyarlı Suşlar	19	51,4	18	48,6	37	100
Antibiyotiklere Orta-duyarlı , Dirençli Suşlar	39	55,7	31	44,3	70	100

M: mukoid, N: mukoid olmayan

Her iki grupta da mukoid suş sayısı daha fazla olup, aradaki fark dirençli ve /veya orta duyarlı suşların olduğu grupta daha fazla saptanmıştır. Çalışmamızda suşların mukoid özellik kazandıkça, antibiyotiklere de dirençli hale geldiği görülmüştür.

Antibiyotik direnç fenotiplerinin hastalara dağılımı heterojen olup; bazı direnç fenotipleri birden fazla hastada karşımıza çıkmaktadır. Onuncu ve 19. hastalarda ise hiç dirençli suş izole edilmemiştir. Ayrıntılı irdelendiğinde; 10 no'lu hastanın yaşının 1,83 yaş olduğu, 3. dönemde *P.aeruginosa* izole edilmediği saptanmış olup; *P.aeruginosa* kolonizasyonunun geçici ve antibiyotik direnci gelişmesi için yeterli sürenin geçmediği anlaşılmıştır. Ondokuzuncu hasta ise sadece tanı sırasında 2 kez hastaneye yatırılmış olup, uzun süredir hiç antibiyotik tedavisi almamıştır. Çalışmamızda sık ve uzun süreli antibiyotik tedavisinin antibiyotik direncinde önemli olduğu saptanmıştır.

Çoklu ilaç dirençli *P.aeruginosa* sıklığı Asya ülkeleri arasında farklılık göstermektedir. Japonya'da % 1,62 iken; Hindistan'da % 4,49, İran'da % 5,46'ya ulaşmaktadır (357-359). Avrupa'da % 4,7 iken, ABD'de %10 oranında daha sıktır (360, 361). Tüm çalışmaların ortak sonucu, çoklu ilaç dirençli suşların en sık solunum yollarından elde edildiğidir (356-361). Tobramisin direnci ise ülkeden ülkeye, hastaneden hastaneye göre değişmektedir. Türkiye'de % 3- 59 arasında değişen oranlar bildirilmektedir (491).

Hastalarımızdan izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının antibiyogram sonuçları incelendiğinde; antibiyotiklere duyarlı suş sayısı İmipenem (n:96), Siprofloksasin (n: 95), Piperasilin-Tazobaktam (n: 95), Tobramisin (n: 92), Netilmisin (n: 89), Seftazidim (n: 88), Meropenem (n: 80), Amikasin (n: 74), Gentamisin (n: 73) sırasına göre azalmaktadır.

Seftazidim, İmipenem, Meropenem, Piperasilin-Tazobaktam, Amikasin, Netilmisin, Gentamisin; akut akciğer alevlenmesi sırasında sık kullandığımız sistemik antibiyotiklerdir iken, tobramisin 28 günlük periyodlarla dönüşümlü olarak kullanılan, inhalasyon yolu ile

uygulanan ve kronik *P.aeruginosa* kolonizasyonu olan hastaların tedavisinde önemli yere sahip bir antibiyotiktir.

Çalışmamızda çoklu ilaç dirençli suş sayısı ise 38 (% 35,5) olup literatürden oldukça fazladır. Çalışmamızda incelenen suşların; *P.aeruginosa* ile uzun süredir kolonize olan, sık ve uzun antibiyotik tedavisi alan hastalardan izole edilen suşlar olması dirençli ve çoklu dirençli suş sayısının literatürden fazla bulunmasının nedeni olduğu düşünülmüştür.

Tobramisine dirençli ya da orta duyarlı suş sayısı 15 olup (% 14), 92 suş tobramisine duyarlıdır. Tobramisin direnci, 5 no'lu hastanın 6 suşundan 4'ünde (% 66,6), 7 no'lu hastanın 1 suşunda (% 20), 9 no'lu hastanın 1 suşunda (% 20), 13 no'lu hastanın 1 suşunda (% 20), 17 no'lu hastanın 2 suşunda (% 22,2) saptanmıştır. Tobramisine orta duyarlı suşlar; 5 no'lu hastanın 1 suşunda (% 16,7), 9 no'lu hastanın 1 suşunda (%20), 12 no'lu hastanın 2 suşunda (%25), 15 no'lu hastanın 2 suşunda (% 22,2) saptanmıştır. Tobramisine duyarlı, orta duyarlı, drençli suşların fenotipleri incelendiğinde; dirençli ve orta-duyarlı suşların herbirinin farklı fenotiplerde olduğu görülmüştür. Mukoid ve mukoid olmayan suşların tobramisin duyarlılığına bakıldığında ise; mukoid suşların 51'inin (% 87,9), mukoid olmayan suşların 41'inin (% 83,7) tobramisine duyarlı olduğu; hastalarımızı kolonize eden *P.aeruginosa* suşlarının fenotiplerinden bağımsız olarak tobramisine yüksek oranda duyarlılık gösterdikleri bulunmuştur (Tablo 48).

Tablo 57. Tobramisin Duyarlılıklarına göre Mukoid ve Mukoid Olmayan Suşların Dağılımı

	Mukoid		Mukoid Olmayan		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Tobramisin Duyarlı Suş	51	55,4	41	44,6	92	100
Tobramisin Orta-duyarlı veya Dirençli Suş	7	46,7	8	53,3	15	100

Bu bulgular hastalarımızın tedavisinde kullandığımız sistemik antibiyotiklere duyarlılığın giderek azaldığını, *P.aeruginosa* eradikasyonun literatürde bildirildiği gibi zor olduğunu; ancak tobramisin tedavide hala önemini koruduğunu, uygun hastalarda mutlaka uygulanması gerektiğini, *P.aeruginosa* eradikasyonunda başarı şansını arttırdığını göstermiştir.

Suşların koloni morfolojileri, pigment özellikleri, antibiyotik direnç fenotipleri birlikte değerlendirildiğinde 73 fenotip saptanmış olup, 7 fenotipte antibiyotik direncine rastlanılmamıştır. Çalışılan antibiyotiklere orta-duyarlı ya da dirençli suşların dağıldığı 66 fenotip değerlendirildiğinde; 19 fenotipin benzer antibiyotik direnç fenotipine sahip suşları içerdiği, 47 fenotipin ise farklı antibiyotik direnç fenotiplerine sahip suşları içerdiği görülmüştür (Tablo 59).

Tablo 59. Antibiyotik Direnç Fenotiplerinin Dağılımı 3

Fenotip No	Antibiyotik Direnç Fenotip No	Suş no	PFGE genotip no
2, 7, 13	2	2, 9, 17	-, XXXVIII, III
14, 43, 64	3	18, 57, 90, 91, 92	XVII, XXVI, XXII, XXVIII, XXIII
25	5	31, 83	XXIV, X
<u>47, 49</u>	6	63, 66, 78	XLVI, <u>XXVII, XXVII</u>
11, 72	8	16, 102	III, XIX
10, 27	9	14, 33	XII, XXIV
<u>44, 45</u>	11	59, 60	<u>XL, XL</u>
48, 59	31	65, 85	XXXV, X
66, 68	33	94, 97	XVIII, XLIII

Çalışmamızda antibiyotik duyarlılıklarının, fenotipik özelliklerin suşlar ve hastalar arasında çeşitlilik gösterdiği; bu durumun hastanların çevre koşullarında, akciğer yapılarında, tedavi protokollerinde değişikliklerle birlikte bakterilerin gen yapılarında da meydana gelen değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmüştür.

KF'li hastalarda bulunan *P.aeruginosa* suşlarının başka bir özelliği de; diğer klinik durumlarda saptanan *P.aeruginosa* suşlarından farklı olarak aşırı mutasyona uğrayabilir 'hypermutable' olmalarıdır (433-436). Çalışmalar geniş ve esnek genom yapısının stresli çevre koşullarına uyum sağlamasını ve bu koşullarda yaşamasını kolaylaştırdığını göstermektedir (45, 253, 293-304). Mutasyon ve rekombinasyon ile gerçekleşen genom değişimi bu uyumda yardımcı olmaktadır (297, 306, 307).

P.aeruginosa çevrede yaygın olarak dağılmış olup, KF hastaların kolonizasyon veya infeksiyonunda en önemli kaynak olduğu düşünülmekteydi. Ancak bu görüşten artık uzaklaşmış olup; birbiri ile ilişkili ya da ilişkili olmayan bireyler arasında bulaşın daha önemli olduğu vurgulanmaktadır. KF hastaları arasında *P.aeruginosa* suşlarının bulaşıcılığını, bulaşan suşların kaynağını ve yayılma yollarını açıklayabilmek için son yıllarda moleküler yöntemlerle çalışmalar yapılmaktadır. PFGE; ayırım gücünün diğer yöntemlere göre daha fazla olması, tekrarlanabilirliği ve nozokomiyal kaynaklı birçok infeksiyon etkenin tiplendirilmesinde altın standart olduğundan birçok çalışmada olduğu gibi çalışmamızda da tercih edilen yöntem olmuştur.

Son yıllarda İngiltere'de, Avusturalya'da, Kanada'da, Danimarka'da moleküler tiplendirme yöntemlerinin de uygunlandığı çalışmalarda epidemik suşlara ve bunların hastadan hastaya bulaştığı gösterilmiştir (53, 54, 59, 65, 57, 442-444). Başka bir çalışmada ise bazı epidemik suşların; başkaber *P.aeruginosa* suşu ile kolonize KF hastalarında süperenfeksiyona, bu hastaların KF olmayan akrabalarına da bulaştığı saptanmıştır. Bu konudaki çalışmalar kısıtlı

olduğu için *P.aeruginosa* suşlarının genotipik değişkenliği ile ilgili bilgiler kesinlik kazanmamıştır. Kuzey İrlanda’da yapılan bir çalışmada; KF’ li erişkin hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* izolatlarının yüksek derecede genetik heterojenite gösterdikleri, benzer genotipte hiçbir suşa rastlanılmadığı bildirilmiştir (66, 52). Ancak bu çalışmadan 2 yıl sonra erişkin hastalarda LES epidemik suşunu izole etmişlerdir (67, 52). Bildirildiği gibi uzun süreli çalışmalarda *P.aeruginosa* genetiği ile ilgili bilgiler daha da anlaşılır hale gelmektedir.

Çalışmamız, Türkiye’de KF’li çocuk hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* suşları arasındaki genetik ilişkiyi inceleyen ilk prospektif çalışma olması açısından daha da önem kazanmaktadır.

Dünyada yapılan bazı çalışmalarda; hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının koloni morfolojilerinin farklı da olsa genotiplerinin benzer olduğunu, *P.aeruginosa*’da fenotip ve genotip ilişkisinin olmadığını bildirilmiştir (68, 69, 52). Ancak antibiyotik direnç fenotipinin; bireyin aynı zamanda alınan aynı solunum örneğinde ve farklı zamanlarda alınan solunum örneklerinde saptanan genotipler arasında farklılık gösterdiği de birçok yayında bildirilmiştir (52, 56, 269, 463-466).

Çalışmamızda izole edilen suşların fenotipleri; koloni morfolojileri, pigment oluşturma özellikleri, antibiyotik duyarlılıkları ile belirlenmiştir. Şuşların fenotipik özellikleri ve genotipleri birlikte incelendiğinde ise; çalışılan tüm antibiyotiklere hassas genotip sayısı 20 olup; 9 genotipin sadece mukoid suşlar, 7 genotipin sadece mukoid olmayan suşlar, 4 genotipin ise her iki morfolojide suşlar içerdiği görülmüştür. Belirtilen genotiplere ait, bütün antibiyotiklere hassas toplam 32 şusun koloni morfolojileri incelendiğinde; mukoid suş sayısı (n:18), mukoid olmayan suş sayısından (n:14) fazla bulunmuştur. Dirençli ya da orta duyarlı olduğu daha önce belirtilmiş olan 70 şusun 2’si 1 no’lu hastaya ait olup genotiplendirilememiştir; diğer 68 suş ise 39 genotipe dağılmıştır, 68 suşun 39’unun mukoid,

29'unun mukoid olmayan koloni morfolojisinde olduğu ve mukoid suş sayısının daha fazla olduğu görülmüştür (Tablo 60, 61). Mukoid suş sayısını, mukoid olmayan suş sayısından fazla olması; litaretüre benzer şekilde KF hastalarında gözlemlenen *P.aeruginosa* ile kronik akciğer infeksiyonunu desteklemektedir.

Tablo 60. Genotiplerin, Koloni Morfolojilerine ve Antibiyotik Fenotiplerine Dağılımı

	Tüm Antibiyotiklere Duyarlı Suşlar ve Genotip Sayıları		Antibiyotikler Orta-duyarlı veya Dirençli Suşlar ve Genotip Sayıları	
	n	%	n	%
M	9	45	15	38,5
N	7	35	10	25,6
M ve N	4	20	14	35,9
Toplam	20	100	39	100

M: Mukoid, N: Mukoid olmayan

Tablo 61. Genotipleri Bilinen Suşların Koloni Morfolojileri

	Tüm Antibiyotiklere Duyarlı Suş Sayısı		Antibiyotikler Orta-duyarlı veya Dirençli Suş Sayısı	
	n	%	n	%
M	18	56,3	39	57,4
N	14	43,7	29	42,6
Toplam	32	100	68	100

M: Mukoid, N: Mukoid olmayan

Benzer genotipte ve aynı antibiyotik direnç fenotipinde suş sayısı 4, genotip sayısı 2 (genotip XXVII, XL; antibiyotik direnç fenotipi 6, 11); benzer genotipte ve farklı antibiyotik direnç fenotipinde suş sayısı 45, genotip sayısı 18 (genotip III, VIII, X, XI, XII, XIV, XVIII, XIX, XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXVIII, XXXIII, XXXV, XLI, XLVIII antibiyotik direnç fenotipi 8, 2, 30, 15, 21, 12, 5, 31, 44, 35, 49, 55, 54, 4, 9, 7, 32, 33, 16, 14, 24, 45, 47, 38, 13, 3, 22, 52, 5, 34, 26, 53, 36, 27, 28, 39, 46, 42, 51, 50) saptanmıştır.

Benzer antibiyotik direnç fenotipinde olup farklı genotipte suş sayısı 18, genotip sayısı 15, (genotip III, XXXVIII, XVII, XXII, XXVI, XXVIII, XXIII, XXIV, X, XIX, XII, XXXV, XVIII, XLIII, XLVI) saptanmıştır (Tablo 62).

Aynı antibiyotik direnç fenotipinde farklı genotipte bulunan suşlardan 13'ü bu grup dışında başka suşlarla benzer genotiptedir. Literatüre benzer şekilde genotip ile antibiyotik direnç fenotipi arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Tablo. 62. Genotip ve Antibiyotik Direnç Fenotip Sınıflaması

	Suş Sayı	Genotip Sayı
	n	n
Benzer Genotip, Aynı Antibiyotik Direnç Fenotipi	4	2
Benzer Genotip, Farklı Antibiyotik Direnç Fenotipi	45	18
Aynı Antibiyotik Direnç Fenotipi, Farklı Genotip	18	15
Farklı Antibiyotik Direnç Fenotipi, Farklı Genotip	14	14

Çalışmamızda; genotipleri benzer fenotipleri farklı suş sayısı 49 (%49), genotipleri farklı fenotipleri farklı suş sayısı 15 (%15), genotipleri farklı fenotipleri aynı suş sayısı 26 (%26), genotipleri benzer fenotipleri aynı suş sayısı 10 (%10) saptanmış olup, literatürdeki

alışmalara benzer şekilde genotip ve fenotip arasında ilişki olmadığı görölmüştür. (Tablo 63).

Tablo 63. Genotip ve Fenotip Sınıflaması

	Suş Sayı	
	n	%
Benzer Genotip, Aynı Fenotip	10	10
Benzer Genotip, Farklı Fenotipi	49	49
Aynı Fenotipi, Farklı Genotip	26	26
Farklı Fenotipi, Farklı Genotip	15	15

Hastalarımızın hepsinde birden fazla suş izole edilmiştir. PFGE ile birinci hastanın izolatları tiplendirelememiş, bu bulgu bize ortak suşlardaki endojen endonükleazlarda aşırı aktivitenin bu duruma neden olduğunu düşündürmüştür.

KF’li hastaların uzun süre izlendiği ve bu hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının moleküler yöntemlerle tiplendirildiği çalışmalarda, her hastada dominant bir genotipin bulunduğu bildirilmiştir (52, 453, 454). Ancak birçok çalışmada *P.aeruginosa* suşları arasında önemli derecede genetik çeşitlilik olduğu saptanmıştır (52, 444, 492-495).

Bazı araştırmacılar KF hastaları arasında genotip paylaşımının çok nadir olduğunu; ancak kardeşler ya da yakın arkadaşlar arasında olabileceğini belirtmişler, bu bulgularını uzun süre yakın temas gerekliliği ile açıklamışlardır (495).

KF hastalarının bulunduğu kamplarda, kliniklerde, hastanelerde çapraz yayılımın olduğunu bildiren yayınlar da bulunmaktadır (444-447, 450, 463, 468, 493-497). Ayrıca Kanada’da, Kuzey İrlanda’da, Danimarka’da, İngiltere’de, Avustralya’da epidemik suşlar da

gösterilmiştir (53, 54, 59, 67, 442,-444). Çapraz kolonizasyon, ortak kaynak kontaminasyonu, çevrede yaygın bulunan bir genotipin bağımsız kazanımı hastalar arasında genotip paylaşımının olası açıklamalarıdır.

Çalışmamızda; *P.aeruginosa* izolatları PFGE ile tiplendirilen hastaların birinde (hasta no:15) bir genotipte, diğer hastalarda birden fazla genotipte suş saptanmıştır.

Dört hastadan (hasta no: 2, 5, 7, 17), izole edilen suşların genotiplerinin diğer hastalarla paylaşılmadığı, sadece izole edildikleri hastalara spesifik oldukları görülmüştür (Tablo 64). Beş hastanın sadece dominant suşlarla kolonize olduğu bulunmuştur.

Tablo 64. Genotiplerin Hastalara Dağılımı 1

Hasta no	Sadece Hastaya Spesifik (dominant) Suşların Genotipi		Hastalar Arasında Paylaşılan Suşların Genotipi	
	İsim	Sayı (n)		
15	X	1	-	-
2	XXXVIII, XXXIX	2	-	-
5	XXV, XXX, XLI, XLII	4	-	-
7	II, XI, XLVIII	3	-	-
17	XVIII, XIX, XLIII	3	-	-

Tek bir genotipin izole edildiği hasta, İstanbul dışında yaşamakta ve 13 8/12 yaşında olup, hastaneye son 5 yılda bir kez yatırılmıştır. Diğer hastalarla; poliklinik, hastane ortamında birlikte bulunmadığı ve İstanbul dışında yaşadığı hatırlanırsa çevre koşulları da diğer hastalardan farklıdır. Literatürde bildirilen yayınlara benzer şekilde tek bir dominant genotiple kolonizedir.

Sadece spesifik genotipte suşun saptandığı dört hastanın biri (7 no'lu hasta) 22 1/12 yaşında olup yaşça en büyük hastamızdır. Bu hasta tanı sırasında ve çocukluk çağı sırasında olmak üzere toplam 8 kez hastaneye yatırılarak tedavi edilmiş, daha sonra poliklinik kontrollerine hiç gelmemiştir. Bu nedenle 7 no'lu hasta çalışmamıza alınan çoğu hasta ile aynı ortamda bulunmamıştır. Bu hastanın da dominant bir suşla kolonize olduğu; hastanın havayoluna uyum sürecinde genom yapısında mutasyon, rekombinasyon gibi genetik olaylarla değişiklik ve çeşitlilik meydana geldiği düşünülmüştür.

Bu gruptaki diğer bir hasta olan 17 no'lu hasta 15 yaşında olup, hastaneye son 10 yılda hiç yatırılmamıştır. Ayrıca 7 ve 17 no'lu hastalar çalışma grubumuzdaki yaşça en büyük dört hasta arasındadırlar. Bu iki hastanın yaşlarının büyük olması, diğer hastalarla çapraz yayılım gösteren genotipte suşların bu hastalardan izole edilmemesi, izole edilen *P.aeruginosa* genotiplerinin başka hastalarda saptanmaması, literatüre benzer şekilde 7 ve 17 no'lu hastaların dominant suşlarla kolonize olduklarını göstermektedir.

Bu gruptaki hastalardan 2 ve 5 no'lu hastalar ise yaşça en küçük dört hasta arasında olup, hiç atak geçirmediikleri bilinmektedir. Bu hastaların hiç hastaneye yatırılmamış olmalarının; hastane ortamından, diğer KF'li ya da KF olmayan hastalardan *P.aeruginosa* bulaşmasını engellemiş olduğu, böylece sadece kendilerine ait genotiplerle kolonize kalmalarının sağlandığı görülmüştür. Ayrıca iki ve beş no'lu hastaların suşları dominant suşlar da olabilir; ancak yaşları gözönünde bulundurulursa havayoluna uyum süreci hala devam etmektedir ve dominant suşun seçilmesi için gerekli süre henüz yeterli olmayabilir.

Dört diğer hastada (hasta no: 6, 10, 14, 16); bir adet spesifik, sadece izole edildiği hastaya ait genotip ile birlikte diğer hastalarla paylaşılan genotipler (genotip I, XXIV, XX, XXII, XXIII) de saptanmıştır (Tablo 65)

Tablo 65. Genotiplerin Hastalara Dağılımı 2

Hasta no	Sadece Hastaya Spesifik (dominant) Suşların Genotipi		Hastalar Arasında Paylaşılan Suşların Genotipi	
	İsim	Sayı (n)		
6	XIII	1	I, XXIV	2
10	VII	I	XVI	1
14	XIV	I	XXIV, XX, XXVII	3
16	XXVIII	I	XXII, XXIII	2

Bu gruptaki hastalardan 6 no'lu hasta toplam 15 kez (3 kez başka bir hastanede), 10 no'lu hasta son 2 yılda 4 kez, 14 no'lu hasta son 2 yılda 4 kez olmak üzere toplam 9 kez, 16 no'lu hasta toplam 3 kez (1 kez başka bir hastanede) yatırılmıştır. Yaşları incelenecek olursa; sırası ile 13 6/12, 1 10/12, 10 6/12, 14 6/12'dir.

On no'lu hastanın yaşının uyum sürecini tamamlamış dominant suşun saptanabilmesi için çok küçük olması, toplam 9 kez olmak üzere çok sık hastaneye yatırılma öyküsü, son dönemde alınan balgamında *P.aeruginosa* izole edilmemesi, bu hastadaki suşların hastane kaynaklı suşlar olduğunu ve hastada geçici kolonizasyona neden olduklarını düşündürmüştür. Ayrıca bu hasta ile genotip XVI'yı paylaşan 11 no'lu hastanın, hastanemizde aynı tarihler arasında farklı odalarda yatırılarak tedavi görmüş olmaları XVI'nın hastane kaynaklı bir suş olduğunu göstermektedir.

Diğer hastaların ise dominant suşların yanında geçici suşlar ile ko-kolonize oldukları saptanmıştır. Hastaneye yatırıldıkları dönemler araştırıldığında 6 ve 14 no'lu hastaların, son 5 yıl içinde 2 kez aynı tarihler arasında hastaneye yatırılarak, 2 kez de poliklinikte ayaktan tetkik ve tedavi edildikleri saptanmış olup; genotip XXIV'ü paylaştıkları bulunmuştur. Genotip XXIV'ü paylaşan dört hastadan (4, 6, 14, 19): 19 no'lu hasta hiç yatırılarak tedavi

görmemiş ancak poliklinik kontrollerinde 3 kez 6 no'lu hasta ile, 1 kez de 4 no'lu hasta ile temas etmiştir. Dört no'lu hasta hastaneye yatırılarak tedavi almış olmasına rağmen genotip XXIV'ü paylaşan diğer hastalarla aynı tarihler arasında yatırılmamıştır, poliklinik kontrollerinde ise 6 no'lu hasta ile 7 kez, 14 no'lu hasta ile 5 kez aynı ortamda bulunmuştur. Böylece dört hasta arasında yayılım olduğu klinik ve moleküler yöntemlerle gösterilmiştir.

Altı hastada ise (3, 4, 8, 9, 11, 12, 13, 19), 2 ile 4 arasında değişen sayıda, hastaya spesifik genotiplerin yanında, diğer hastalarla paylaşılan genotiplerin (genotip I, III, VIII, XII, XVI, XX, XXII, XXIII, XXIV, XXVII, XXXV) de olduğu saptanmıştır. Benzer genotipte suşlarla kolonize hastaların dosyaları incelendiğinde bu hastalar arasında da ortak alan paylaşımı olduğu görülmüştür (Tablo 66).

Tablo 66. Genotiplerin Hastalara Dağılımı 3

Hasta no	Sadece Hastaya Spesifik (dominant) Suşların Genotipi		Hastalar Arasında Paylaşılan Suşların Genotipi	
	İsim	Sayı (n)		
3	III, XXXVI, XLVII	3	XII	1
4	XVII, XV	2	XII, XXIV, XXII	3
8	XXIX, XXXI, XXXII, XXXIII	4	I	1
9	IV, XXI	2	XX	1
11	V, IX, XXVI,	3	VIII, XVI, XXXV	3
12	XL, XLVI, XXXIV	3	XXXV, XXVII	2
13	XLV, XXXVII	2	VIII, XXVII, XXIII	3
19	VI, XLIV	2	XXII, XXIV	2

Bu grupta hastaların biri dışında (8 no'lu hasta) hepsi 10 yaşın üstündedirler. Çalışmamızda yaşça en büyük ikinci ve üçüncü hasların (hasta no: 13, hasta no:11) yaşları sırası ile 20 ve 11 11/12'dir. Sekiz no'lu hastanın yaşı ise 8 11/12 'dir. Yaşları ile birlikte değerlendirildiğinde; bu grupta tüm hastaların dominant suşlarla kolonize oldukları ancak diğer hastalarla bazı genotipte suşları paylaştıkları saptanmış, hastalar arasında yayılımın mümkün olduğu desteklenmiştir. Sadece genotip XXII'yi paylaşan hastalardan 16 no'lu hastanın diğer iki hasta ile temas ettiği saptanamamış, 19 ve 4 no'lu hastaların ise 1 kez poliklinikte temas ettikleri saptanmıştır. Her üçü de farklı illerde yaşayan bu hastalar arasında paylaşılan genotipin yayılımı gösterilememiş, nereden kaynaklandığı açıklanamamıştır. Epidemik bir suş olabileceği düşünölmüştür, ancak bu olasılığı açıklayabilmek için çok merkezli bir çalışma yapılması gerekmektedir.

Diğer ortak genotipler incelendiğinde; 12 no'lu hastada saptanmış olan genotip XXVII'nin 13 ve 14 ve no'lu hastalarda da saptandığı; genotip VIII'in 11 ve 13 no'lu hastalarla, genotip XII'nin 3 ve 4 no'lu hastalarla, genotip XX'nin ise 9 ve 14 no'lu hastalarla, genotip XXIII' ün 13 ve 16 no'lu hastalarla, genotip XXXV'in 11 ve 12 no'lu hastalarla paylaşıldığı görölmüştür.

Üç hastada benzer genotipin saptandığı 12, 13, 14 no'lu hastalar (genotip XXVII) aynı dönemlerde ve sık aralıklarla hastaneye yatırılarak tedavi gören, poliklinikte aynı ortamda birlikte bulunan hastalardır. Aynı tarihler arasında üç hastanın bir kez, bu dönem dışında 12 ve 14 no'lu hastaların bir kez, 13 ve 14 no'lu hastanın 2 kez hastanede yatırılarak tedavi gördükleri saptanmıştır. Ayrıca aynı gün üçünün bir kez, 12 ve 14 no'lu hastanın 4 kez, 13 ve 14 no'lu hastanın 4 kez, 12 ve 13 no'lu hastanın 3 kez poliklinikte ortak alanda bulundukları, muayene ve tetkik edildikleri saptanmıştır. Bu bulgu; literatürde olduğu gibi; hastalar arasında yayılımın sözkonusu olduğunu desteklemektedir.

Aynı tarihler arasında hastanede yatarak tedavi gören 3 ve 4 no'lu hastaların da benzer genotiple kolonize oldukları (genotip XII), bu hastaların ayrıca 6 kez poliklinikte biraraya geldikleri bulunmuştur.

Hastalardan; genotip VIII ve XXIII'le kolonize hastaların poliklinikte üçer kez, genotip XX ve XXXV ile kolonize olanların poliklinikte ikişer kez, aynı ortamda muayene ve tetkik edildikleri saptanmıştır.

Dikkatimizi çeken başka bir durum da 8 no'lu hastanın diğer bir hasta (hasta no:6) ile paylaştığı tek genotip (genotip I) olup; bu iki hasta kliniğimiz dışında başka bir üniversite hastanesinin aynı kliniğinde daha önce tedavi görmüşlerdir. Genotip I bu farklı hastanenin suşu olabileceği gibi, epidemik bir suş da olabilir.

Epidemik suşların belirlenebilmesi için; Türkiye'de KF hastalarından izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının moleküler tiplendirilmesinin yapılacağı, çok merkezli çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Hastaların atak sayıları kolonize oldukları *P.aeruginosa* suşlarının genotiplerine göre sınıflandırıldığında, yayılım gösteren suşların bulunduğu hastalarda toplam ve son bir yılda atak sayısının daha fazla olduğu görülmüştür (Tablo 57, 58). Ancak hasta sayısı az olduğundan kesin bir önermede bulunmak doğru değildir. Bu nedenle daha fazla hasta ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tablo 57. Genotiplere göre Atak Sayıları 1

Genotip No	Hasta No	Hasta Toplam Atak sayı	Toplam Atak sayı	Hasta Son 1 yıl Atak Sayı	Son 1 yıl Atak Sayı
XXIV	4, 6, 14 19	2, 15, 9, 2	28	1, 1, 1, 0	3
XXVII	12, 13, 14	10, 8, 9	27	3, 1, 1	5
I	6, 8	15, 3	18	1, 1	2
XX	9, 14	5, 9	14	2, 1	3
XXXV	12, 11	10, 3	13	3, 0	3
XVI	10, 11	4, 3	7	0, 0	0
XXII	16, 19, 4	2, 2, 2	6	0, 0, 1	1
XII	3, 4	1, 2	3	0, 1	1
VIII	11, 13	3, 8	11	0, 1	1
XXIII	16, 13	2, 8	10	0,1	1

Tablo 58. Genotiplere göre Atak Sayıları 2

Genotip No	Toplam Atak Sayı	Son 1 yıl Atak Sayı
XIII	15	1
XXXIV, XL, XLVI, XLVIII	10	3, 3, 3, 2
XIV	9	1
XLV, II, XI	8	1, 2, 2
XXI, IV	5	2, 1
VII	4	0
V, XXVI, XXIX, XXXI, XXXII, XXXIII, XLI, XLIII, III, IX, X	3	0, 0, 1, 1, 1, 1, 0, 0, 0, 1
VI, XV, XVII, XXVIII, XXXVII, XLIV	2	0, 1, 1, 1, 1, 0
XVIII, XIX, XXXVI, XXXVIII, XXXIX, XLVII	1	0, 0, 0, 0, 0, 0
XXV, XXX, XLII	0	0, 0, 0

Hastalarımızın muayene ve tetkik sırasını bekledikleri alan kısıtlı, bekleme süreleri uzundur. Özellikle kan vermek için bekledikleri alan hijyen, havalandırma ve güneş ışığı ile aydınlanma açısından yetersizdir. Çalışmamızda; belirtilen koşulların hastalar arasında *P.aeruginosa* bulaşıcılığını kolaylaştırdığı ve arttırdığı görülmüş, klinik ve moleküler epidemiyolojik verilerle desteklenmiştir.

Dünya’da, birçok KF merkezinde yapılan çalışmalarda da benzer şekilde hastalar arasında özellikle yakın temas ve uzun süre gibi koşullar altında *P.aeruginosa* yayılımının olabileceğini desteklemektedir. Ancak ne şekilde olduğu henüz aydınlatılamamıştır. Bu nedenle *P.aeruginosa* ile kolonize olduğu bilinen veya öngörülen KF hastalarının poliklinik

kontrollerinin yapıldığı alanların, yatırılarak tedavi gördükleri servislerin sık ve uygun şekilde temizlenmesine, havalandırılmasına, stetoskop gibi ortak kullanılan aletlerin, malzemelerin temizliğine dikkat edilmelidir. Sağlık personeli el hijyenine önem vermeli; ayrıca hastalar farklı tarihlerde, aynı alanda uzun süre beklemeycek şekilde, mümkün olduğunca farklı odalarda muayene, tetkik ve tedavi edilmelidirler. Hastanede yatırılarak tedavi edilecek hastaların farklı odalarda, birbirileri ile temas etmeyecek şekilde yatırılmaları, odalarının sık ve uygun şekilde temizlenmesi sağlanmalıdır.

Kistik fibrozisli hastalarda mortalite ve morbiditenin en önemli nedeni olan kronik endobronşiyal akciğer infeksiyonunda başlıca etkenin *P.aeruginosa* olduğu bilinmekle birlikte, bakterinin genetiği, klinik ve moleküler epidemiyolojisi ile bilgiler henüz yeterli değildir. Moleküler yöntemlerin tek başına *P.aeruginosa* epidemiyolojisini açıklamak için yeterli olmadığı, klinik epidemiyolojik verilerle mutlaka birlikte değerlendirilmesi gerektiği bilinmelidir. KF ve *P.aeruginosa* genetiği, epidemiyolojisi ile ilgili konularda birçok, çok merkezli ve multidisipliner çalışmalara ihtiyaç duyulduğu açıktır.

SONUÇ

Erken tanı, enfeksiyon kontrolü, beslenmenin düzeltilmesi, antibiyotik ve nebulize tedaviler ile KF’de yaşam beklentisinin uzamıştır. Çalışmaya alınan hastalarımızın yaş ortalaması $13 \pm 4,5$ yaş, en büyük hastamızın yaşı 22,08 olup, hastalarımızın da yaş ortalaması giderek artmaktadır.

Hastalarımızın tanı konulma yaşı ise 2.59 ± 3.95 yıl (1 ay – 16 yaş) olup literatürde ve kliniğimizde daha önce yapılmış tez çalışmasında bildirilen ortalama yaştan daha küçüktür. Bunun nedeni, çalışmamıza alınan ve balgamında *P.aeruginosa* kolonizasyonu olan hastaların, klinik bulgularının daha ağır ve tipik olması dolayısıyla daha erken tanı almış olmalarıdır.

Sağlık Bakanlığı’nın planladığı ve yakın dönemde Türkiye’de uygulamaya girmesi beklenen yenidoğan tarama testleri ile ülkemizde tanı yaşının daha da düşmesi beklenmektedir.

Pediyatrik döneme ait çalışmalarda solunum yolu örneklerinde *P.aeruginosa* varlığının FEV1 değerindeki azalama için büyük risk oluşturduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda FEV1 değerlerinin literatürde belirtilen değerlerden düşük olması; kronik ve sıklıkla mukoid tipte *P.aeruginosa* varlığının FEV1 değerlerinde azalma için risk oluşturduğunu desteklemiştir.

KF’ li hastalarda erken dönemde *P.aeruginosa* kolonizasyonu ve enfeksiyonu genellikle mukoid olmayan suşlarla olmaktadır. Ancak daha sonra kronik süreçte bakteri mukoid fenotipe değişmekte ve biyofilm oluşturmaktadır.

Çalışmamızda hastalarımızın balgam kültürlerinden izole edilmiş mukoid suş sayısı (n:58, %58) mukoid olmayan suş sayısından (n:49, %45,8) fazla saptanmış; *P.aeruginosa* ile kolonize hastaların yaşı arttıkça ve *P.aeruginosa* kolonizasyonu kronikleştikçe, *P.aeruginosa*

suşlarının mukoid özellik kazandıkları görülmüştür. En fazla pigment üreten suş 2 no'lu hastada, en fazla üretilen pigment de yeşil olarak saptanmıştır.

Kistik fibrozisli hastalarda *P.aeruginosa*'nın eradikasyonu birçok faktör nedeniyle zor olup, en önemli sorunlardan biri antibiyotik direncidir. Çalışmamızda 56 farklı direnç fenotipi saptanmıştır. İzole edilensuşların % 34,6'sı tüm antibiyotiklere duyarlı iken % 65,4'ü çalışılan antibiyotiklere dirençli ya da orta-duyarlı bulunmuş; suşların mukoid özellik kazandıkça, antibiyotiklere de dirençli hale geldiği görülmüştür.

Antibiyotik direnç fenotiplerinin hastalara dağılımı heterojen olup; bazı direnç fenotipleri birden fazla hastada karşımıza çıkmıştır. Sık ve uzun süreli antibiyotik tedavisinin antibiyotik direncinde önemli olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda çoklu ilaç dirençli suş sayısı ise 38 (% 35,5) olup literatürden oldukça fazladır. Çalışmamızda incelenen suşların; *P.aeruginosa* ile uzun süredir kolonize olan, sık ve uzun antibiyotik tedavisi alan hastalardan izole edilen suşlar olması dirençli ve çoklu dirençli suş sayısının literatürden fazla bulunmasının nedeni olduğu düşünülmüştür.

Tobramisin direnci ise ülkeden ülkeye, hastaneden hastaneye göre değişmektedir. Türkiye'de % 3- 59 arasında değişen oranlar bildirilmektedir.

Çalışmamızda; Tobramisine dirençli ya da orta duyarlı suş oranı % 14; mukoid suşların 51'inin (% 87,9), mukoid olmayan suşların 41'inin (% 83,7) tobramisine duyarlı olduğu; hastalarımızı kolonize eden *P.aeruginosa* suşlarının fenotiplerinden bağımsız olarak tobramisine yüksek oranda duyarlılık gösterdikleri bulunmuştur.

İzole edilen *P.aeruginosa* suşlarının duyarlılıklarının en fazla olduğu antibiyotiklerin; İmipenem, Siprofloksasin, Piperasilin-Tazobaktam; en az olduğu antibiyotiklerin ise Gentamisin, Amikasin, Meropenem olduğu saptanmıştır. Klinikte sık kullanılan

antibiyotiklerin duyarlılıklarının azalması gelecekte antibiyotik tedavisinde sorunlar yaşanacağını ve akılcı antibiyotik kullanımının önemini göstermektedir.

Suşların koloni morfolojileri, pigment özellikleri, antibiyotik direnç fenotipleri birlikte değerlendirildiğinde 73 fenotip saptanmış olup; antibiyotik duyarlılıklarının, fenotipik özelliklerin suşlar ve hastalar arasında çeşitlilik gösterdiği saptanmıştır. Hastaların çevre koşullarında, akciğer yapılarında, tedavi protokollerinde farklılıkların; *P.aeruginosa* suşlarının gen yapılarında meydana gelen değişikliklerin bu çeşitliliğe etkili olduğu düşünülmüştür.

KF hastaları arasında *P.aeruginosa* suşlarının bulaşıcılığını, bulaşan suşların kaynağını ve yayılma yollarını açıklayabilmek için son yıllarda moleküler yöntemlerle çalışmalar yapılmaktadır. PFGE, birçok çalışmada olduğu gibi çalışmamızda da tercih edilen yöntem olmuştur.

Son yıllarda, dünyada birçok merkezde moleküler tiplendirme yöntemlerinin de uygunlandığı çalışmalarda epidemik suşlara rastlanılmış, bunların hastadan hastaya bulaştığı, başkaber *P.aeruginosa* suşu ile kolonize KF hastalarında süperenfeksiyona, KF olmayan akrabalara bulaştığı gösterilmiştir.

P.aeruginosa suşlarının genotipik değişkenliği ile ilgili bilgiler çalışmaların kısıtlılığı nedeni ile henüz kesinlik kazanmamıştır. Çalışmamız, Türkiye’de KF’li çocuk hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* suşları arasındaki genetik ilişkiyi inceleyen ilk prospektif çalışma olması açısından daha da önem kazanmaktadır.

Dünyada yapılan birçok çalışmada; *P.aeruginosa*’da fenotip ve genotip ilişkisinin olmadığını bildirilmiştir.

Çalışmamızda suşların fenotipik özellikleri ve genotipleri birlikte incelendiğinde ise; çalışılan tüm antibiyotiklere hassas genotip sayısı 20; dirençli ya da orta duyarlı genotip sayısı 39

genotipe saptanmıştır. Benzer genotipte ve aynı antibiyotik direnç fenotipinde suş sayısı 4, genotip sayısı 2; benzer genotipte ve farklı antibiyotik direnç fenotipinde suş sayısı 45, genotip sayısı 18; benzer antibiyotik direnç fenotipinde olup farklı genotipte suş sayısı 18, genotip sayısı 15 saptanmış olup literatüre benzer şekilde genotip ile antibiyotik direnç fenotipi arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Hastalarımızın hepsinde birden fazla suş izole edilmiştir. PFGE ile birinci hastanın izolatları tiplendirelememiş, bu bulgu bize ortak suşlardaki endojen endonükleazlarda aşırı aktivitenin bu duruma neden olduğunu düşündürmüştür.

Genotipleri benzer fenotipleri farklı suş sayısı 49 (%49), genotipleri farklı fenotipleri farklı suş sayısı 15 (%15), genotipleri farklı fenotipleri aynı suş sayısı 26 (%26), genotipleri benzer fenotipleri aynı suş sayısı 10 (%10) bulunmuştur.

Çalışmamızda; beş hastanın literatürde bildirilen yayınlara benzer şekilde sadece dominant suşlarla kolonize olduğu bulunmuştur. Diğer hastaların ise dominant suşların yanında geçici suşlar ile ko-kolonize oldukları bulunmuştur.

On no'lu hastanın, 9 kez olmak üzere çok sık hastaneye yatırılmış, 11 no'lu hasta ile aynı tarihler arasında hastanede yatırılarak tedavi görmüş olması, hastane kaynaklı bir suş ile kolonize olduğunu göstermiştir.

Benzer genotipi paylaşan hastaların dosyaları incelendiğinde ve hastaneye yatırıldıkları dönemler araştırıldığında; bazılarının aynı tarihler arasında hastaneye yatırılarak, bazılarının poliklinik kontrollerinde ortak alanı paylaştıkları saptanmıştır. Sadece genotip XXII'yi paylaşan 3 hastadan 16 no'lu hastanın diğer iki hasta ile temas ettiği saptanamamış, üçü de farklı illerde yaşayan bu hastalar arasında paylaşılan genotipin yayılımı gösterilememiş, nereden kaynaklandığı açıklanamamıştır. Epidemik bir suş olabileceği, bu olasılığı açıklayabilmek için çok merkezli bir çalışma yapılması gerektiği düşünülmüştür.

İki hastanın kliniğimiz dışında başka bir üniversite hastanesinin aynı kliniğinde daha önce tedavi gördükleri, Genotip I'in sadece bu hastalarda saptandığı, 8 no'lu hastanın başkibir hasta ile paylaştığı tek suşun genotip I olduğu dikkatimizi çekmiştir. Genotip I'in belirtilen üniversite hastanesinin suşu olabileceği ya da epidemik bir suş olabileceği düşünülmüştür.

Epidemik suşların belirlenebilmesi için; Türkiye'de KF hastalarından izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının moleküler tiplendirilmesinin yapılacağı, çok merkezli çalışmaların yapılması gereğini doğurmuştur.

Hastaların atak sayıları kolonize oldukları *P.aeruginosa* suşlarının genotiplerine göre sınıflandırıldığında, yayılım gösteren suşların bulunduğu hastalarda toplam ve son bir yılda atak sayısının daha fazla olduğu görülmüştür. Ancak hasta sayısı az olduğundan kesin bir önermede bulunmak doğru değildir. Bu nedenle daha fazla hasta sayısı ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Dünya'da, birçok KF merkezinde yapılan çalışmalara da benzer şekilde hastalarımız arasında özellikle yakın temas ve uzun süre gibi koşullar altında *P.aeruginosa* yayılımının olabileceğini klinik ve moleküler yöntemlerle gösterilmiştir. Ancak ne şekilde olduğu henüz aydınlatılamamıştır. Bu nedenle *P.aeruginosa* ile kolonize olduğu bilinen veya öngörülen KF hastalarının poliklinik bulunduğu alanların temizlenmesine, havalandırılmasına dikkat edilmeli; sağlık personeli el hijyenine önem vermeli; hastalar farklı tarihlerde, aynı alanda uzun süre beklemeyecek şekilde, mümkün olduğunca farklı odalarda muayene, tetkik ve tedavi edilmelidirler. Hastanede yatırılarak tedavi edilecek hastaların farklı odalarda, biribileri ile temas etmeyecek şekilde yatırılmaları, odalarının sık ve uygun şekilde temizlenmesi sağlanmalıdır.

Kistik fibrozisli hastalarda mortalite ve morbiditenin en önemli nedeni olan kronik endobronşiyal akciğer enfeksiyonunda başlıca etkenin *P.aeruginosa* olduğu bilinmekle

birlikte, bakterinin genetiği, klinik ve moleküler epidemiyoloji si ile bilgiler henüz yeterli değildir. Moleküler yöntemlerin tek başına *P.aeruginosa* epidemiyolojisini açıklamak için yeterli olmadığı, klinik epidemiyolojik verilerle mutlaka birlikte değerlendirilmesi gerektiği bilinmelidir.

KF ve *P.aeruginosa* genetiği, epidemiyoloji si ile ilgili konularda birçok, çok merkezli ve multidispliner çalışmalara ihtiyaç duyulduğu açıktır.

5. KAYNAKLAR

1. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB (2002). Lung infections associated with cystic fibrosis. Clin Microbiol. Rev; **15**: 194-222.
2. Pier GB (2000). Role of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in innate immunity to *Pseudomonas aeruginosa* infections. Proc. Natl. Acad. Sci; **97**: 8822-8828.
3. Grundmann H, Schneider C, Hartung D, Daschner FD, Pitt DL (1995). Discriminatory power of three DNA-based typing techniques for *Pseudomonas aeruginosa*. J Clin Microbiol; **33**: 528-534.
4. Belkum A (1994). DNA fingerprinting of medically important microorganism by use of PCR. Clin Microbiol Rev; **7**: 174-184.
5. Hoogkamp-Korstanje JAA, Meis JFG, Kissing J, van der Laag J, Melchers JWG (1995). Risk of crosscolonization and infection by *Pseudomonas aeruginosa* in a holiday camp for cystic fibrosis patients. J. Clin. Microbiol; **33**: 572-575.
6. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Feizabadi MM (2009). Prevalence of ESBLs genes among multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients in Tehran. Microb Drug Resist; **15**: 37–39.
7. Hadadi A, Rasoulinejad M, Maleki Z et al (2008). Antimicrobial resistance pattern of Gram-negative Bacilli of nosocomial origin at 2 university hospitals in Iran. Diagnost Microbiol Infect Dis; **60**: 301–305.
8. Renders N, Romling Y, Verbrugh H et al (1996). Comparative typing of *Pseudomonas aeruginosa* by random amplification of polymorphic DNA or pulsed-field gel electrophoresis of DNA macrorestriction fragments. J Clin Microbiol; **34**: 3190–3195.
9. Bertrand X, Thouverez M, Patry C et al (2001). *Pseudomonas aeruginosa*: Antibiotic susceptibility and genotypic characterization of strains isolated in the intensive care unit. Clin Microbiol Infect; **7**: 706–708.
10. Allardet-Servent A, Bouziges N, Carles-Nurit MJ et al (1989). Use of low-frequency-cleavage restriction endonucleases for DNA analysis in epidemiological investigations of nosocomial bacterial infections. J Clin Microbiol; **27**: 2057–2062.
11. Gautam RK (1997). Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for typing of *Escherichia coli* O157:H7 and other gram-negative organisms in 1 day. J Clin Microbiol; **35**: 2977–2980.

12. Kersulyte D, Struelens MJ, Deplano A, Berg DE (1999). Comparison of arbitrarily primed PCR and macrorestriction (pulsed field gel electrophoresis) typing of *Pseudomonas aeruginosa* strains from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol*; **33**: 2216-2219.
13. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV et al (1995). Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*; **33**: 2233–2239.
14. Nikbin VS, Abdi-Ali A, Feizabadi MM et al (2007). Pulsed field gel electrophoresis and plasmid profile of *Pseudomonas aeruginosa* at two hospitals in Tehran, Iran. *Indian J Med Res*; **126**: 146–151.
15. Waters V, Zlosnik JEA, Yau YCW, Speert DP, Aaron SD, Guttman DS (2012). Comparison of three typing methods for *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; **31**: 3341–3350.
16. Aktaş Z, Day M, Kayacan CB, Diren S, Threlfall EJ (2007). Molecular characterization of *Salmonella Typhimurium* and *Salmonella Enteritidis* by plasmid analysis and pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Antimicrob Agents*; **30(6)**:541-545.
17. O'Sullivan BP, Freedman SD (2009). Cystic fibrosis. *Lancet*; **373**: 1891-904.
18. Blackman SM, Deering–Brose R, McWilliams R et al (2006). Relative contribution of genetic and nongenetic modifiers to intestinal obstruction in cystic fibrosis. *Gastroenterology*; **131**: 1030–1039
19. Sun L, Rommens JM, Corvol H et al (2012). Multiple apical plasma membrane constituents are associated with susceptibility to meconium ileus in individuals with cystic fibrosis. *Nat Genet*; **44**: 562–569.
20. Ahmed N, Corey M, Forstner G et al (2003). Molecular consequences of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene mutations in the exocrine pancreas. *Gut*; **52**: 1159–1164.
21. Ooi CY, Dorfman R, Cipolli M et al (2011). Type of CFTR mutation determines risk of pancreatitis in patients with cystic fibrosis. *Gastroenterology*; **140**: 153–161.
22. Adler AI, Shine BSF, Chamnan P et al (2008). Genetic determinants and epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes: results from a British cohort of children and adults. *Diabetes Care*; **31**: 1789–1794.
23. Solomon MP, Wilson DC, Corey M et al (2003). Glucose intolerance in children with cystic fibrosis. *J Pediatr*; **142**:128–132.

24. Rosenfeld M, Emerson J, McNamara S, Thompson V, Ramsey BW, Morgan W, Gibson RL (2012). Risk factors for age at initial *Pseudomonas* acquisition in the cystic fibrosis epic observational cohort. *J Cyst Fibros*; **11**: 446-453.
25. Regamey N, Jeffery PK, Alton EW et al (2011). Airway remodelling and its relationship to inflammation in cystic fibrosis. *Thorax*; **66**: 624-629.
26. Hansen CR, Pressler T, Hoiby N (2008). Early aggressive eradication therapy for intermittent *Pseudomonas aeruginosa* airway colonization in cystic fibrosis patients: 15 years experience. *J Cyst Fib*; **7**: 523-350.
27. Wiehlmann L, Cramer N, Ulrich J et al (2012). Effective prevention of *Pseudomonas aeruginosa* cross-infection at a cystic fibrosis centre - results of a 10-year prospective study. *Int J Med Microbiol*; **302**: 69-77.
28. Hoiby N (2011). Recent advances in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. *BMC Med*; **9**: 32.
29. Parad RB, Gerard CJ, Zurakowski D et al (1999). Pulmonary outcome in cystic fibrosis is influenced primarily by mucoid *Pseudomonas aeruginosa* infection and immune status and only modestly by genotype. *Infect Immun*; **67**: 4744-4750.
30. Corey M, McLaughlin FJ, Williams M et al (1988). A comparison of survival, growth, and pulmonary function in subjects with cystic fibrosis in Boston and Toronto. *J Clin Epidemiol*; **41**: 583-591.
31. Schechter MS, Shelton BJ, Margolis PA et al (2001). The association of socioeconomic status with outcomes in cystic fibrosis subjects in the United States. *Am J Respir Crit Care Med*; **163**: 1331-1337.
32. Kogan I, Ramjeesingh M, Li C et al (2003). CFTR directly mediates nucleotide-regulated glutathione flux. *EMBO J*; **22**: 1981-1989.
33. Davis PB, Schluchter MD, Konstan MW (2004). Relation of sweat chloride concentration to severity of lung disease in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*; **38**: 204-209.
34. Sebro R, Levy H, Schneck K, Dimmock D, Raby BA, Cannon CL, Broeckel U, Risch NJ (2012). Cystic fibrosis mutations for p.F508del compound heterozygotes predict sweat chloride levels and pancreatic sufficiency. *Clin Genet*; **82**: 546-551.
35. Cystic Fibrosis Foundation National Patient Registry (2009). Annual Data Report. Bethesda, Maryland.

36. Kosorok MR, Zeng L, West SE et al (2001). Acceleration of lung disease in children with cystic fibrosis after *Pseudomonas aeruginosa* acquisition. *Pediatr Pulmonol*; **32(4)**: 277–287.
37. Emerson J, Rosenfeld M, McNamara S et al (2002). *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*; **34(2)**: 91–100.
38. Konstan MW, Morgan WJ, Butler SM et al (2007). Risk factors for rate of decline in forced expiratory volume in one second in children and adolescents with cystic fibrosis. *J Pediatr*; **151(2)**: 134–139.
39. Li Z, Kosorok MR, Farrell PM et al (2005). Longitudinal development of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* infection and lung disease progression in children with cystic fibrosis. *JAMA*; **293(5)**: 581–582.
40. Pressler T, Frederiksen B, Skov M et al (2006). Early rise of anti-pseudomonas antibodies and a mucoid phenotype of *Pseudomonas aeruginosa* are risk factors for development of chronic lung infection—a case control study. *J Cyst Fibros*; **5(1)**: 9–15.
41. Doring G, Conway SP, Heijerman HG et al (2000). Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus. *Eur Respir J*; **16(4)**: 749–767.
42. Doring G, Hoiby N (2004). Early intervention and prevention of lung disease in cystic fibrosis: a European consensus. *J Cyst Fibros*; **3(2)**: 67–91.
43. Hoiby N, Frederiksen B, Pressler T (2005). Eradication of early *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Cyst Fibros*; **4 (Suppl. 2)**: 49–54.
44. Borowitz D, Robinson KA, Rosenfeld M et al (2009). Cystic Fibrosis Foundation evidence-based guidelines for management of infants with cystic fibrosis. *J Pediatr*; **155 (6 Suppl.)**: 73–93.
45. Mathee K, Narasimhan G, Valdes C et al (2008). Dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* genome evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*; **105**: 3100–3105.
46. Espinosa RM, Chavez GS, Sapien GD, Miranda LS, Mendez JL, Valencia GG, Cravioto A (2012). *Ploa ONE*; **7**: 37459.
47. Levin BR, Lipsitch M, Bonhoeffer S (1999). Population biology, evolution, and infectious disease: convergence and synthesis. *Science*; **283**: 806–809.

48. Guttman DS, Stavrinides J (2010). Population Genomics of Bacteria. In: Robinson DA, Falush D, Feil EJ, editors. Bacterial Population Genetics in Infectious Disease. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 121–151.
49. Spratt BG, Maiden MC (1999). Bacterial population genetics, evolution and epidemiology. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci; **354**: 701–710.
50. De Vrankrijker AM, Brimicombe RW, Wolfs TF et al (2011). Clinical impact of a highly prevalent *Pseudomonas aeruginosa* clone in Dutch cystic fibrosis patients. Clin. Microbiol. Infect; **17**: 382–385.
51. Edenborough FP, Stone HR, Kelly SJ et al (2004). Genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis suggests need for segregation. J. Cyst. Fibros; **3**: 37–44.
52. Logan C, Habington A, Lennon G et al (2012). Genetic relatedness of *Pseudomonas aeruginosa* isolates among a paediatric cystic fibrosis patient cohort in Ireland. J. Med. Microbiol; **61**: 64–70.
53. O’Carroll MR, Syrmis MW, Wainwright CE et al (2004). Clonal strains of *Pseudomonas aeruginosa* in paediatric and adult cystic fibrosis units. Eur. Respir. J; **24**: 101–106.
54. Scott FW, Pitt TL (2004). Identification and characterization of transmissible *Pseudomonas aeruginosa* strains in cystic fibrosis patients in England and Wales. J. Med. Microbiol; **53**: 609–615.
55. Syrmis MW, O’Carroll MR, Sloots TP et al (2004). Rapid genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* isolates harboured by adult and paediatric patients with cystic fibrosis using repetitive-element-based PCR assays. J. Med. Microbiol; **53**: 1089–1096.
56. Al-Aloul M, Crawley J, Winstanley C et al (2004). Increased morbidity associated with chronic infection by an epidemic *Pseudomonas aeruginosa* strain in CF patients. Thorax; **59**: 334–336.
57. Lechtzin N, John M, Irizarry R et al (2006). Outcomes of adults with cystic fibrosis infected with antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Respiration; **73**: 27–33.
58. Nixon GM, Armstrong DS, Carzino R et al (2001). Clinical outcome after early *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. J. Pediatr; **138**: 699–704.
59. Jones AM, Govan JR, Doherty CJ (2001). Spread of a multiresistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* in an adult cystic fibrosis clinic. Lancet; **358**: 557–558.

60. Tramper-Stranders GA, van der Ent CK, Wolfs TF et al (2008). *Pseudomonas aeruginosa* diversity in distinct paediatric patient groups. Clin Microbiol Infect; **14**: 935–941.
61. van Mansfeld R, Jongerden I, Bootsma M et al (2010). The population genetics of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from different patient populations exhibits high-level host specificity. PLoS One; **5**: 13482.
62. Romling U, Kader A, Sriramulu DD et al (2005). Worldwide distribution of *Pseudomonas aeruginosa* clone C strains in the aquatic environment and cystic fibrosis patients. Environ Microbiol; **7**: 1029–1038.
63. *Pseudomonas aeruginosa* PubMLST database (2012). Available: <http://pubmlst.org/paeruginosa/>. Accessed 2011 Oct 4.
64. Wiehlmann L, Wagner G, Cramer N et al (2007). Population structure of *Pseudomonas aeruginosa*. Proc Natl Acad Sci USA; **104**: 8101–8106.
65. Jelsbak, L, Johansen, H. K, Frost, A. L. et al (2007). Molecular epidemiology and dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* populations in lungs of cystic fibrosis patients. Infect Immun **75**; 2214–2224
66. Clarke, L, Moore, J. E, Millar, B. C. et al (2008). Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in adult patients with cystic fibrosis in Northern Ireland. Br J Biomed Sci **65**; 18–21.
67. Kakinuma, Y, Goldsmith, C. E, Watt, A. et al (2010). Molecular conservation within LES9F and PS21 liverpool epidemic strain (LES) markers in wild-type clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the sputum of adult patients with cystic fibrosis. Br J Biomed Sci **67**; 87–88.
68. Van Daele, S. G, Franckx, H., Verhelst, R. et al (2005). Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in a cystic fibrosis rehabilitation centre. Eur Respir J **25**; 474–481.
69. da Silva Filho, L. V, Levi, J. E., Bento, C. N. et al (2001). Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a cystic fibrosis outpatient clinic. J Med Microbiol **50**; 261–267.
70. Gibson LE, Cooke RE (1959). A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. Pediatrics; **23**: 545-549.
71. Knowlton RG, Cohen-Haguenauer O, Van Cong N et al (1985). A polymorphic DNA marker linked to cystic fibrosis is located on chromosome 7. Nature; **318**: 380-382.

72. Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA et al (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science*; **245**: 1073-1080.
73. Walters S, Mehta A. Epidemiology of cystic fibrosis. In: Hodson M, Geddes DM, Bush A, eds. *Cystic fibrosis*, 3rd edn. London: Edward Arnold Ltd, 2007: 21-45.
74. Scotet V, Gillet D, Duguépérroux I et al (2002). Spatial and temporal distribution of cystic fibrosis and of its mutations in Brittany, France: a retrospective study from 1960. *Hum Genet*; **111**: 247-254.
75. Bossi A, Casazza G, Padoan R. Assemblea Dei Direttori Dei Centri (2004). What is the incidence of Cystic Fibrosis in Italy? Data from the National Registry (1988–2001). *Hum Biol*; **76**: 455-467.
76. Hamosh A, Fitz Simmons SC, Macek M Jr et al (1998). Comparison of clinical manifestations of cystic fibrosis in black and white patients. *J Pediatr*; **132**: 255-259.
77. Dodge JA, Morison S, Lewis PA et al (1997). Incidence, population, and survival of cystic fibrosis in the UK, 1968–95. *Arch Dis Child*; **77**: 493-496.
78. Gürson CT, Sertel H, Gürkan M, Pala S (1973). Newborn screening for cystic fibrosis with the chloride electrode and neutron activation analysis. *Helv Paediatr Acta*; **28**: 165-174.
79. Kiper N (2007). Kistik Fibrozis; Ülkemizdeki Durum. *Güncel Pediatri*; **5**: 18.
80. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/StatisticsPage.html> (Erişim tarihi 25.06.2011)
81. Welsh MJ, Ramsey BW, Accurso FJ, Cutting GR. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2001: 5121-5188.
82. Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr et al (2008). Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros*; **7**: 179–196.
83. Kiliç MO, Ninis VN, Dağlı E et al (2002). Highest heterogeneity for cystic fibrosis: 36 mutations account for 75% of all CF chromosomes in Turkish patients. *Am J Med Genet*; **113**: 250-257.
84. Yilmaz E, Erdem H, Özgüç M et al (1995). Study of 12 mutations in Turkish cystic fibrosis patients. *Hum Hered*; **45**: 175-177.
85. Onay T, Topaloglu O, Zielenski J, Gokgoz N, Kayserili H, Camcioglu Y (1998). Analysis of the CFTR gene in Turkish cystic fibrosis patients: identification of three novel mutations (3172delAC, P1013L and M1028I). *Hum Genet*; **102**: 224-230.

86. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ (2005). Cystic fibrosis. *N Engl J Med*; **352**: 1992-2001.
87. Cutting GR (2005). Modifier genetics: cystic fibrosis. *Annu Rev Genomics Hum Genet*; **6**: 237-260.
88. Bartlett JR, Friedman KJ, Ling SC et al for the Gene Modifier Study Group (2009). Genetic modifiers of liver disease in cystic fibrosis. *JAMA*; **302**: 1076-1083.
89. Blackman S, Hsu S, Ritter S et al (2009). A susceptibility gene for type 2 diabetes confers substantial risk for diabetes complicating cystic fibrosis. *Diabetologia*; **52**: 1858–1865.
90. Emond MJ, Louie T, Emerson J et al (2012). Exome sequencing of extreme phenotypes identifies DCTN4 as a modifier of chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Nat Genet*; **44**: 886–889.
91. Wright FA, Strug LJ, Doshi VK et al (2011). Genome-wide association and linkage identify modifier loci of lung disease severity in cystic fibrosis at 11p13 and 20q13.2. *Nat Genet*; **43**: 539–546.
92. Jilling T, Kirk KL (1997). The biogenesis, traffic, and function of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Int Rev Cytol*; **172**: 193-241.
93. Kerem E (2005). Pharmacological induction of CFTR function in patients with cystic fibrosis: mutation-specific therapy. *Pediatr Pulmonol*; **40**: 183-196.
94. Anderson P (2010). Emerging therapies in cystic fibrosis. *Ther Adv Respir Dis*; **4**: 177-185.
95. Sagel SD, Sontag MK, Wagener JS, Kapsner RK, Osberg I, Accurso FJ (2002). Induced sputum inflammatory measures correlate with lung function in children with cystic fibrosis. *J Pediatr*; **141**: 811-817.
96. Dakin CJ, Numa AH, Wang H, Morton JR, Vertzyas CC, Henry RL (2002). Inflammation, infection, and pulmonary function in infants and young children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*; **165**: 904-910.
97. Rosenfeld M, Gibson RL, McNamara S et al (2001). Early pulmonary infection, inflammation, and clinical outcomes in infants with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*; **32**: 356 -366.
98. Chmiel JF, Berger M, Konstan MW (2002). The role of inflammation in the pathophysiology of CF lung disease. *Clin Rev Allergy Immunol*; **23**: 5-27.

99. Collaco JM, McGready J, Green DM et al (2011). Effect of temperature on cystic fibrosis lung disease and infections: a replicated cohort study. *PLoS One*; **6(11)**: 27784.
100. Saiman L, Siegel J (2003). Infection control recommendations for patients with cystic fibrosis: microbiology, important pathogens, and infection control practices to prevent patient-to-patient transmission. *Am J Infect Control*; **31(3 Suppl.)**: 1–62.
101. Bajmoczy M, Gadjeva M, Alper SL et al (2009). Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and caveolin-1 regulate epithelial cell internalization of *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Physiol Cell Physiol*; **297(2)**: 263–277.
102. Ranganathan SC, Parsons F, Gangell C et al (2011). Evolution of pulmonary inflammation and nutritional status in infants and young children with cystic fibrosis. *Thorax*; **66(5)**: 408–413.
103. Kubesch P, Dork T, Wulbrand U et al (1993). Genetic determinants of airways' colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Lancet*; **341(8839)**: 189–193.
104. Levy H, Kalish LA, Cannon CL et al (2008). Predictors of mucoid *Pseudomonas* colonization in cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol*; **43(5)**: 463–471.
105. Hamutcu R, Woo MS (2001). Advanced cystic fibrosis lung disease in children. *Curr Opin Pulm Med*; **7**: 448–453.
106. Khan TZ, Wagener JS, Bost T, Martinez J, Accurso FJ, Riches DW (1995). Early pulmonary inflammation in infants with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*; **151**: 1075–1082.
107. Liou TG, Adler FR, Fitzsimmons SC, Cahill BC, Hibbs JR, Marshall BC (2001). Predictive 5-year survivorship model of cystic fibrosis. *Am J Epidemiol*; **153**: 345–352.
108. Dakin C, Henry RL, Field P, Morton J (2001). Defining an exacerbation of pulmonary disease in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*; **31**: 436–442.
109. Rosenfeld M, Emerson J, Williams-Warren J et al (2001). Defining a pulmonary exacerbation in cystic fibrosis. *J Pediatr*; **139**: 359–365.
110. Ramsey BW, Boat TF (1994). Outcome measures for clinical trials in cystic fibrosis. Summary of a Cystic Fibrosis Foundation consensus conference. *J Pediatr*; **124**: 177–192.

111. Rosenfeld M, Ramsey BW, Gibson RL (2003). *Pseudomonas* acquisition in young patients with cystic fibrosis: pathophysiology, diagnosis, and management. *Curr Opin Pulm Med*; **9**: 492-497.
112. Kirkby S, Novak K, McCoy K (2009). Update on antibiotics for infection control in cystic fibrosis. *Expert Rev Anti Infect Ther*; **7**: 967-980.
113. Burns JL, Gibson RL, McNamara S et al (2001). Longitudinal assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in young children with cystic fibrosis. *J Infect Dis*; **183**: 444-452.
114. Schaedel C, de Monestrol I, Hjelte L et al (2002). Predictors of deterioration of lung function in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* **33**: 483-491
115. Starner TD, McCray PB Jr, American College of Physicians, American Physiological Society. Pathogenesis of early lung disease in cystic fibrosis: A window of opportunity to eradicate bacteria. *Ann Intern Med* 2005; **143**: 816-822.
116. Taccetti G, Campana S, Festini F, Mascherini M, Doring G (2005). Early eradication therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients. *Eur Respir J*; **26**: 458-461.
117. Demko CA, Byard PJ, Davis PB (1995). Gender differences in cystic fibrosis: *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Clin Epidemiol*; **48**: 1041-1049.
118. Hentzer M, Teitzel GM, Balzer GJ et al (2001). Alginate overproduction affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm structure and function. *J. Bacteriol*; **183**: 5395-5401.
119. Hoiby N (2000). Prospects for the prevention and control of pseudomonal infection in children with cystic fibrosis. *Paediatr Drugs*; **2**: 451-463.
120. Donaldson SH, Boucher RC (2003). Update on pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Curr Opin Pulm Med*; **9**: 486-491.
121. Battan PC, Barnes AI, Albesa I (2004). Resistance to oxidative stress caused by ceftazidime and piperacillin in a biofilm of *Pseudomonas*. *Luminescence*; **19**: 265-270.
122. Tre-Hardy M, Vanderbist F, Traore H, Devleeschouwer MJ (2008). In vitro activity of antibiotic combinations against *Pseudomonas aeruginosa* biofilm and planktonic cultures. *Int J Antimicrob Agents*; **31**: 329-336.
123. Steinkamp G, Wiedemann B, Rietschel E et al (2005). Prospective evaluation of emerging bacteria in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*; **4**: 41-48.

124. De Boeck K, Malfroot A, Van Schil L et al (2004). Epidemiology of *Burkholderia cepacia* complex colonisation in cystic fibrosis patients. *Eur Respir J*; **23**: 851-856.
125. Stevens DA, Moss RB, Kurup VP et al (2003). Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis - state of the art: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference. *Clin Infect Dis*; **37**: 225-264.
126. Mastella G, Rainisio M, Harms HK et al (2000). Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. A European epidemiological study. Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis. *Eur Respir J* 2000; **16**: 464-471.
127. Robertson JM, Friedman EM, Rubin BK (2008). Nasal and sinus disease in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev*; **9**: 213-219.
128. Hedman J, Kaprio J, Poussa T, Nieminen MM (1999). Prevalence of asthma, aspirin intolerance, nasal polyposis and chronic obstructive pulmonary disease in a population-based study. *Int J Epidemiol*; **28**: 717-722.
129. Franco LP, Camargos PA, Becker HM, Guimarães RE (2009). Nasal endoscopic evaluation of children and adolescents with cystic fibrosis. *Braz J Otorhinolaryngol*; **75**: 806-813.
130. Brihaye P, Clement PA, Dab I, Desprechin B (1994). Pathological changes of the lateral nasal wall in patients with cystic fibrosis (mucoviscidosis). *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*; **28**: 141-147.
131. Coste A, Gilain L, Roger G et al (1995). Endoscopic and CT-scan evaluation of rhinosinusitis in cystic fibrosis. *Rhinology*; **33**: 152-156.
132. Brihaye P, Jorissen M, Clement PA (1997). Chronic rhinosinusitis in cystic fibrosis (mucoviscidosis). *Acta Otorhinolaryngol Belg*; **51**: 323-37.
133. Hadfield PJ, Rowe-Jones JM, Mackay IS (2000). The prevalence of nasal polyps in adults with cystic fibrosis. *Clin Otolaryngol Allied Sci*; **25**: 19-22.
134. Yung MW, Gould J, Upton GJ (2002). Nasal polyposis in children with cystic fibrosis: a long-term follow-up study. *Ann Otol Rhinol Laryngol*; **111**: 1081-1086.
135. Moran A, Dunitz J, Nathan B, Saeed A, Holme B, Thomas W (2009). Cystic fibrosis-related diabetes: current trends in prevalence, incidence, and mortality. *Diabetes Care*; **32**: 1626-1631.
136. Milla CE, Warwick WJ, Moran A (2000). Trends in pulmonary function in patients with cystic fibrosis correlate with the degree of glucose intolerance at baseline. *Am J Respir Crit Care Med*; **162** :891-895.

137. Elder DA, Wooldridge JL, Dolan LM, D'Alessio DA (2007). Glucose tolerance, insulin secretion, and insulin sensitivity in children and adolescents with cystic fibrosis and no prior history of diabetes. *J Pediatr*; **151**: 653- 658.
138. Milla CE, Billings J, Moran A (2005). Diabetes is associated with dramatically decreased survival in female but not male subjects with cystic fibrosis. *Diabetes Care*; **28**: 2141-2144.
139. Wilschanski M, Durie PR (2007). Patterns of GI disease in adulthood associated with mutations in the CFTR gene. *Gut*; **56**: 1153-1163.
140. Cheng K, Ashby D, Smyth R (2000). Ursodeoxycholic acid for cystic fibrosis-related liver disease. *Cochrane Database Syst Rev*; **2**: CD000222.
141. Milkiewicz P, Skiba G, Kelly D et al (2002). Transplantation for cystic fibrosis: outcome following early liver transplantation. *J Gastroenterol Hepatol*; **17**: 208-213.
142. Dray X, Bienvenu T, Desmazes-Dufeu N, Dusser D, Marteau P, Hubert D (2004). Distal intestinal obstruction syndrome in adults with cystic fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*; **2**: 498-503.
143. Fustik S, Pop-Jordanova N, Slaveska N, Koceva S, Efremov G (2002). Metabolic alkalosis with hyponatremia in infants with cystic fibrosis. *Pediatr Int*; **44**: 289-92.
144. Devlin J, Beckett NS, David TJ (1989). Elevated sweat potassium, hyperaldosteronism and pseudo-Bartter's syndrome: a spectrum of disorders associated with cystic fibrosis. *J R Soc Med*; **82**: 38-43.
145. Sojo A, Rodriguez-Soriano J, Vitoria JC, Vazquez C, Ariceta G, Villate A (1994). Chloride deficiency as a presentation or complication of cystic fibrosis. *Eur J Pediatr*; **153**: 825-828.
146. Yalçın E, Kiper N, Doğru D, Özçelik U, Aslan AT (2005). Clinical features and treatment approaches in cystic fibrosis with pseudo-Bartter syndrome. *Ann Trop Paediatr*; **25**: 119-124.
147. Ballesterio Y, Hernandez MI, Rojo P et al (2006). Hyponatremic dehydration as a presentation of cystic fibrosis. *Pediatr Emerg Care*; **22**: 725-727.
148. Boyle MP (2003). Nonclassic cystic fibrosis and CFTR-related diseases. *Curr Opin Pulm Med*; **9**: 498-503.
149. Yankaskas JR, Marshall BC, Sufian B, Simon RH, Rodman D (2004). Cystic fibrosis adult care: consensus conference report. *Chest*; **125**: 1-39.

150. McMullen AH, Pasta DJ, Frederick PD et al (2009). Impact of pregnancy on women with cystic fibrosis. *Chest*; **129**: 706-711.
151. Sermet-Gaudelus I, Castanet M, Retsch-Bogart G, Aris RM (2009). Update on cystic fibrosis-related bone disease: a special focus on children. *Paediatr Respir Rev*; **10**: 134-142.
152. Rosenstein BJ, Cutting GR (1998). The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr*; **132**: 589-595.
153. De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C et al (2006). Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax*; **61**: 627-635.
154. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB et al (2008). Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. *J Pediatr*; **153**: 4-14.
155. Voter KZ, Ren CL (2008). Diagnosis of cystic fibrosis. *Clin Rev Allergy Immunol*; **35**: 100-106.
156. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ (2007). Diagnostic sweat testing: the Cystic Fibrosis Foundation guidelines. *J Pediatr*; **151**: 85-89.
157. CLSI. Sweat Testing: Sample Collection and Quantitative Chloride Analysis; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document C34-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
158. Mishra A, Greaves R, Smith K et al (2008). Diagnosis of cystic fibrosis by sweat testing: age-specific reference intervals. *J Pediatr*; **153**: 758-763.
159. Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya ME (2003). Sweat conductivity and chloride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. *J Cyst Fibros*; **2**: 1-7.
160. Eng W, LeGrys VA, Schechter MS, Laughon MM, Barker PM (2005). Sweat-testing in preterm and full-term infants less than 6 weeks of age. *Pediatr Pulmonol*; **40**: 64-67.
161. Knowles MR, Carson JL, Collier AM, Gatzky JT, Boucher RC (1981). Measurements of nasal transepithelial electric potential differences in normal human subjects in vivo. *Am Rev Respir Dis*; **124**: 484-490.

162. Crossley JR, Smith PA, Edgar BW, Gluckman PD, Elliott RB (1981). Neonatal screening for cystic fibrosis, using immunoreactive trypsin assay in dried blood spots. *Clin Chim Acta*; **113**: 111-121.
163. Cystic Fibrosis Foundation. Patient Registry 2006 Annual Report, Bethesda, Maryland: 2008.
164. Comeau AM, Accurso FJ, White TB et al (2007). Guidelines for implementation of cystic fibrosis newborn screening programs: Cystic Fibrosis Foundation workshop report. *Pediatrics*; **119**: 495-518.
165. Sontag MK, Hammond KB, Zielenski J, Wagener JS, Accurso FJ (2005). Two-tiered immunoreactive trypsinogen-based newborn screening for cystic fibrosis in Colorado: screening efficacy and diagnostic outcomes. *J Pediatr*; **147**: 83-88.
166. Grosse SD, Boyle CA, Botkin JR et al (2004). Newborn screening for cystic fibrosis: evaluation of benefits and risks and recommendations for state newborn screening programs. *MMWR Recomm Rep*; **53**: 1-36.
167. Wilcken B, Wiley V, Sherry G, Bayliss U (1995). Neonatal screening for cystic fibrosis: a comparison of two strategies for case detection in 1.2 million babies. *J Pediatr*; **127**: 965-970.
168. Wagener JS, Sontag MK, Sagel SD, Accurso FJ (2004). Update on newborn screening for cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med*; **10**: 500-504.
169. Grosse SD, Rosenfeld M, Devine OJ, Lai HJ, Farrell PM (2006). Potential impact of newborn screening for cystic fibrosis on child survival: a systematic review and analysis. *J Pediatr*; **149**: 362-366.
170. Sontag MK, Corey M, Hokanson JE et al (2006). Genetic and physiologic correlates of longitudinal immunoreactive trypsinogen decline in infants with cystic fibrosis identified through newborn screening. *J Pediatr*; **149**: 650-657.
171. Schidlow DV, Taussig LM, Knowles MR (1993). Cystic Fibrosis Foundation consensus conference report on pulmonary complications of cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*; **15**: 187-198.
172. Eichinger M, Heussel CP, Kauczor HU, Tiddens H, Puderbach M (2010). Computed tomography and magnetic resonance imaging in cystic fibrosis lung disease. *J Magn Reson Imaging*; **32**: 1370-1378.
173. Eggesbo HB, Sovik S, Dolvik S, Kolmannskog F (2002). CT characterization of inflammatory paranasal sinus disease in cystic fibrosis. *Acta Radiol*; **43**: 21-28.

174. Nishioka GJ, Cook PR, McKinsey JP, Rodriguez FJ (1996). Paranasal sinus computed tomography scan findings in patients with cystic fibrosis. *Otolaryngol Head Neck Surg*; **114**: 394-399.
175. Corey M, Edwards L, Levison H, Knowles M (2002). Longitudinal analysis of pulmonary function decline in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr*; **131**: 809-814.
176. Schluchter MD, Konstan MW, Davis PB et al (2002). Jointly modelling the relationship between survival and pulmonary function in cystic fibrosis patients. *Stat Med* **21**: 1271–1287.
177. Kerem E, Reisman J, Corey M, Canny GJ, Levison H (1992). Prediction of mortality in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med*; **326**: 1187-1191.
178. Wang X, Dockery DW, Wypij D, Fay ME, Ferris BG Jr (1993). Pulmonary function between 6 and 18 years of age. *Pediatr Pulmonol*; **15**: 75-88.
179. Holsclaw DS, Perlmutter AD, Jockin H, Shwachman H (1971). Genital abnormalities in male patients with cystic fibrosis. *J Urol*; **106**: 568-574.
180. Kerem E, Conway S, Elborn S et al; Consensus Committee (2005). Standards of care for patients with cystic fibrosis: a European consensus. *J Cyst Fibros*; **4(1)**: 7–26.
181. Jaffé A, Bush A (2001). Cystic fibrosis: review of the decade. *Monaldi Arch Chest Dis*; **56**: 240-247.
182. O’Riordan SM, Robinson PD, Donaghue KC, Moran A; ISPAD Clinical Practice Consensus (2008). Management of cystic fibrosis-related diabetes. *Pediatr Diabetes*; **9**: 338-344.
183. Kearns GL, Trang JM (1986). Introduction to pharmacokinetics: aminoglycosides in cystic fibrosis as a prototype. *J Pediatr*; **108**: 847-853.
184. Ramsey BW (1996). Management of pulmonary disease in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med*; **335**: 179-188.
185. Wolter JM, Bowler SD, Nolan PJ, McCormack JG (1997). Home intravenous therapy in cystic fibrosis: a prospective randomized trial examining clinical, quality of life and cost aspects. *Eur Respir J*; **10**: 896-900.
186. Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW (2003). Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*; **168**: 918–951.
187. Stutman HR, Lieberman JM, Nussbaum E, Marks MI (2002). Antibiotic prophylaxis in infants and young children with cystic fibrosis: a randomized controlled trial. *J Pediatr*; **140**: 299-305.

188. Ratjen F, Comes G, Paul K et al; German Board of the European Registry for Cystic Fibrosis (ERCF) (2001). Effect of continuous antistaphylococcal therapy on the rate of *P.aeruginosa* acquisition in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*; 31: 13-16.
189. Munck A, Bonacorsi S, Mariani-Kurkdjian P et al (2001). Genotypic characterization of *Pseudomonas aeruginosa* strains recovered from patients with cystic fibrosis after initial and subsequent colonization. *Pediatr Pulmonol*; **32**: 288-292.
190. Ratjen F (2006). Treatment of early *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med*; **12**: 428-432.
191. Razvi S, Quittell L, Sewall A et al (2009). Respiratory microbiology of patients with cystic fibrosis in the United States, 1995 to 2005. *Chest*; **136**: 1554-1560.
192. Ramsey BW, Pepe MS, Quan JM et al (1999). Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1999; **340**: 23-30.
193. Murphy TD, Anbar RD, Lester LA et al (2004). Treatment with tobramycin solution for inhalation reduces hospitalizations in young CF subjects with mild lung disease. *Pediatr Pulmonol*; 38: 314-320.
194. Flume PA, O'Sullivan BP, Robinson KA et al (2007); Cystic Fibrosis Foundation, Pulmonary Therapies Committee. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med*; **176**: 957-969.
195. Rosenfeld M, Gibson R, McNamara S et al (2001). Serum and lower respiratory tract drug concentrations after tobramycin inhalation in young children with cystic fibrosis. *J Pediatr*; **139**: 572-577.
196. Retsch-Bogart GZ, Quittner AL, Gibson RL et al (2009). Efficacy and safety of inhaled aztreonam lysine for airway pseudomonas in cystic fibrosis. *Chest*; **135**: 1223-1232.
197. McCoy KS, Quittner AL, Oermann CM (2008). Inhaled aztreonam lysine for chronic airway *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*; **178**: 921-928.
198. Hodson ME, Gallagher CG, Govan JR (2002). A randomised clinical trial of nebulised tobramycin or colistin in cystic fibrosis. *Eur Respir J*; 20: 658-664.

199. Pitt TL, Sparrow M, Warner M, Stefanidou M (2003). Survey of resistance of *Pseudomonas aeruginosa* from UK patients with cystic fibrosis to six commonly prescribed antimicrobial agents. *Thorax*; 58: 794-796.
200. Saiman L, Marshall BC, Mayer-Hamblett N et al (2003). Azithromycin in patients with cystic fibrosis chronically infected with *Pseudomonas aeruginosa*: a randomized controlled trial. *JAMA*; **290**: 1749-1756.
201. Wolter J, Seeney S, Bell S, Bowler S, Masel P, McCormack J (2002). Effect of long term treatment with azithromycin on disease parameters in cystic fibrosis: a randomised trial. *Thorax*; 57: 212-216.
202. Clement A, Tamalet A, Leroux E et al (2006). Long term effects of azithromycin in patients with cystic fibrosis: A double blind, placebo controlled trial. *Thorax*; **61**: 895-902.
203. Dinwiddie R (2005). Anti-inflammatory therapy in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*; **4**: 45-48.
204. Schultz MJ (2004). Macrolide activities beyond their antimicrobial effects: macrolides in diffuse panbronchiolitis and cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother*; **54**: 21-28.
205. Saiman L, Siegel J (2004). Infection control in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev*; **17**: 57-71.
206. Fuchs HJ, Borowitz DS, Christiansen DH et al (1994). Effect of aerosolized recombinant human DNase on exacerbations of respiratory symptoms and on pulmonary function in patients with cystic fibrosis. The Pulmozyme Study Group. *N Engl J Med*; **331**: 637-642.
207. Quan JM, Tiddens HA, Sy JP et al (2001). A two-year randomized, placebo-controlled trial of dornase alfa in young patients with cystic fibrosis with mild lung function abnormalities. *J Pediatr*; 139: 813-820.
208. Wark P, McDonald VM (2009). Nebulised hypertonic saline for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*; CD001506.
209. Donaldson SH, Bennett WD, Zeman KL et al (2006). Mucus clearance and lung function in cystic fibrosis with hypertonic saline. *N Engl J Med*; **354**: 241-250.
210. Elkins MR, Robinson M, Rose BR et al (2006). A controlled trial of long-term inhaled hypertonic saline in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med*; 354: 229-240.
211. Kellerman D, Rossi Mospan A et al (2008). Denufosol: a review of studies with inhaled P2Y(2) agonists that led to Phase 3. *Pulm Pharmacol Ther*; 21: 600-607.

212. Jaques A, Daviskas E, Turton JA et al (2008). Inhaled mannitol improves lung function in cystic fibrosis. *Chest*; 133: 1388-1396.
213. Kötting M, Busch AE, Hug MJ, Greger R, Kunzelmann K (1996). N-Acetyl-L-cysteine and its derivatives activate a Cl⁻ conductances in epithelial cells. *Pflügers Arch*; 431: 549-555.
214. Weinberger M (2002). Airways reactivity in patients with CF. *Clin Rev Allergy Immunol*; **23**: 77-85.
215. Brand PL (2000). Bronchodilators in cystic fibrosis. *J R Soc Med*; 93: 37-39.
216. Eigen H, Rosenstein BJ, FitzSimmons S, Schidlow DV (1995). A multicenter study of alternate-day prednisone therapy in patients with cystic fibrosis. Cystic Fibrosis Foundation Prednisone Trial Group. *J Pediatr*; 126: 515-523.
217. Balfour-Lynn IM, Lees B, Hall P et al (2006). Multicenter randomized controlled trial of withdrawal of inhaled corticosteroids in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*; **173**: 1356-1362.
218. Balfour-Lynn IM, Welch K (2009). Inhaled corticosteroids for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*; CD001915.
219. Wojtczak HA, Kerby GS, Wagener JS et al (2001). Beclomethasone dipropionate reduced airway inflammation without adrenal suppression in young children with cystic fibrosis: a pilot study. *Pediatr Pulmonol*; **32**: 293-302.
220. Konstan MW, Davis PB (2002). Pharmacological approaches for the discovery and development of new anti-inflammatory agents for the treatment of cystic fibrosis. *Adv Drug Deliv Rev*; **54**: 1409-1423.
221. Konstan MW, Byard PJ, Hoppel CL, Davis PB (1995). Effect of high-dose ibuprofen in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med*; **332**: 848-854.
222. Lands LC, Milner R, Cantin AM, Manson D, Corey M (2007). High-dose ibuprofen in cystic fibrosis: Canadian safety and effectiveness trial. *J Pediatr*; 151: 249-254.
223. Fennell PB, Quante J, Wilson K et al (2007). Use of high-dose ibuprofen in a pediatric cystic fibrosis center. *J Cystic Fibros*; 6: 153-158.
224. Oermann CM, Sockrider MM, Konstan MW (1999). The use of anti-inflammatory medications in cystic fibrosis: trends and physician attitudes. *Chest*; **115**: 1053-1058.

225. Schmitt-Grohé S, Eickmeier O, Schubert R, Bez C, Zielen S (2002). Anti-inflammatory effects of montelukast in mild cystic fibrosis. *Ann Allergy Asthma Immunol*; **89**: 599-605.
226. Thomson MA, Quirk P, Swanson CE et al (1995). Nutritional growth retardation is associated with defective lung growth in cystic fibrosis: a preventable determinant of progressive pulmonary dysfunction. *Nutrition*; **11**: 350-354.
227. Peterson ML, Jacobs DR Jr, Milla CE (2003). Longitudinal changes in growth parameters are correlated with changes in pulmonary function in children with cystic fibrosis. *Pediatrics*; **112**: 588-592.
228. Sharma R, Florea VG, Bolger AP et al (2001). Wasting as an independent predictor of mortality in patients with cystic fibrosis. *Thorax*; **56**: 746-750.
229. Dodge JA, Turck D (2006). Cystic fibrosis: nutritional consequences and management. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*; **20**: 531-546.
230. Borowitz DS, Grand RJ, Durie PR (1995). Use of pancreatic enzyme supplements for patients with cystic fibrosis in the context of fibrosing colonopathy. Consensus Committee. *J Pediatr*; **127**: 681-684.
231. Smyth RL, Ashby D, O’Hea U et al (1995). Fibrosing colonopathy in cystic fibrosis: results of a case-control study. *Lancet*; **346**: 1247-1251.
232. Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M (2008). Drug and Therapeutics Committee of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. Vitamin D deficiency in children and its management: review of current knowledge and recommendations. *Pediatrics*; **122**: 398-417.
233. Holick MF (2006). High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc*; **81**: 353-373.
234. Holick MF (2004). Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr*; **79**: 362-371.
235. Pincikova T, Nilsson K, Moen IE et al (2011). Inverse relation between vitamin D and serum total immunoglobulin G in the Scandinavian Cystic Fibrosis Nutritional Study. *Eur J Clin Nutr*; **65**: 102-109.
236. Sinaasappel M, Stern M, Littlewood J et al (2002). Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. *J Cyst Fibros*; **1**: 51-75.
237. Maqbool A, Stallings VA (2008). Update of fat-soluble vitamins in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med*; **14**: 574-581.

238. Goldberg HJ, Deykin A (2007). Advances in lung transplantation for patients who have cystic fibrosis. Clin Chest Med; **28**: 445-457.
239. Young AC, Wilson JW, Kotsimbos TC, Naughton MT (2008). Randomised placebo controlled trial of non-invasive ventilation for hypercapnia in cystic fibrosis. Thorax; **63**: 72-77.
240. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry. Annual Data Report. Bethesda, Marland. Cystic Fibrosis Foundation; 2011.
241. Gessard C (1984). Classics in infectious diseases. On the blue and green coloration that appears on bandages. Rev Infect Dis; **6(3)**: 775-776.
242. Liu Z, Xu Y, D Li-Bo et al (2013). *Pseudomonas aeruginosa* isolates of distinct sub-genotypes exhibit similar potential of antimicrobial resistance by drugs exposure. Antonie van Leeuwenhoek; **103**: 797-807
243. Floret N, Bertrand X, Thouverez M et al (2009). Nosocomial infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*: exogenous or endogenous origin of this bacterium? Pathol Biol; **57(1)**: 9–12.
244. Avile's CL, Silva P, Zubieta M et al (2012). Cancer, febrile neutropenia and pulmonary images: findings in bronchoalveolar lavage in children. Rev Chilena Infectol; **29(3)**: 329–334.
245. Ortiz-Herrera M, Gero'nimo-Gallegos A, Cuevas-Schacht F et al (2004). RAPD-PCR characterization of *Pseudomonas aeruginosa* strains obtained from cystic fibrosis patients. Salud Publica Mex; **46(2)**: 149–157.
246. Akanji BO, Ajele JO, Onasanya A et al (2011). Genetic fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa* involved in nosocomial infection as revealed by RAPD-PCR markers. Biotechnology; **10(1)**: 70–77.
247. Sobral D, Kurkdjian PM, Bingen E et al (2012). A new highly discriminatory multiplex capillary-based MLVA assay as a tool for the epidemiological survey of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. Eur J Microbiol Infect Dis; **31**: 2247-2256.
248. Lipuma JJ (2010). The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. Clin Microbiol Rev; **23(2)**: 299–323.
249. Choi JY, Sifri CD, Goumnerov BC et al (2002). Identification of virulence genes in a pathogenic strain of *Pseudomonas aeruginosa* by representational difference analysis. J Bacteriol; **184**: 952–961.

250. Galloway DR (1991). *Pseudomonas aeruginosa* elastase and elastolysis revisited: recent developments. *Mol Microbiol*; **5**: 2315–2321.
251. Peters JE, Galloway DR (1990). Purification and characterization of an active fragment of the LasA protein from *Pseudomonas aeruginosa*: enhancement of elastase activity. *J Bacteriol*; **172**: 2236–2240.
252. Rumbaugh KP, Abdul BS, Hamood N (1999). Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates for possible variations within the virulence gene exotoxin A and exoenzyme S. *J Surg Research*; **82**: 95–105.
253. Shen K, Sayeed S, Antalis P et al (2002). Extensive genomic plasticity in *Pseudomonas aeruginosa* revealed by identification and distribution studies of novel genes among clinical isolates. *Infect Immun*; **74**: 5272–5283.
254. Wick MJ, Frank DW, Storey DG et al (1990). Structure, function and regulation of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A. *Annu Rev Microbiol*; **44**: 335–363.
255. Wolska K, Szweda P (2009). Genetic features of clinical *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Pol J Microbiol*; **78**: 255–260.
256. Hogardt M, Heesemann J (2010). Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* during persistence in the cystic fibrosis lung. *Int J Med Microbiol*; **300 (8)**: 557–562
257. Evans DJ, Brown MRW, Allison DG et al (1990). Susceptibility of bacterial biofilms to tobramycin: role of specific growth rate and phase in the division cycle. *J. Antimicrob. Chemother*; **25**: 585–591.
258. Mann EE, Wozniak DJ (2012). *Pseudomonas* biofilm matrix composition and niche biology. *FEMS Microbiol. Rev*; **36**: 893–916
259. Alkawash MA, Soothill JS, Schiller NL et al (2006). Alginate lyase enhances antibiotic killing of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms. *APMIS*; **114**: 131–138.
260. Byrd MS, Pang B, Hong W et al (2011). Direct evaluation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm mediators in a chronic infection model. *Infect. Immun*; **79**: 3087–3095.
261. Colvin KM, Irie Y, Tart CS et al (2012). The Pel and Psl polysaccharides provide *Pseudomonas aeruginosa* structural redundancy within the biofilm matrix. *Environ. Microbiol*; **14**: 1913–1928.

262. Yang L, Hu Y, Liu Y et al (2011). Distinct roles of extracellular polymeric substances in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Environ. Microbiol*; **13**: 1705–1717.
263. Bjarnsholt T, Jensen PO, Burmolle M et al (2005). *Pseudomonas aeruginosa* tolerance to tobramycin, hydrogen peroxide and polymorphonuclear leukocytes is quorum-sensing dependent. *Microbiology*; **151**: 373–383.
264. Banin E, Brady KM, Greenberg EP (2006). Chelator-induced dispersal and killing of *Pseudomonas aeruginosa* cells in a biofilm. *Appl. Environ. Microbiol*; **72**: 2064–2069.
265. Kaneko Y, Thoendel M, Olakanmi O et al (2007). The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity. *J. Clin. Invest*; **117**: 877–888.
266. Pamp SJ, Gjermansen M, Johansen HK et al (2008). Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the pmr and mexAB-oprM genes. *Mol. Microbiol*; **68**: 223–240.
267. Davies DG, Parsek MR, Pearson JP et al (1998). The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*; **280**: 295–298
268. Matsukawa M, Greenberg EP (2004). Putative exopolysaccharide synthesis genes influence *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *J. Bacteriol*; **186**: 4449–4456.
269. Lee B, Schjerling CK, Kirkby N, et al (2011). Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates maintain the biofilm formation capacity and the gene expression profiles during the chronic lung infection of CF patients. *APMIS*; **119**: 263-274
270. Ma L, Conover M, Lu H et al (2009). Assembly and development of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. *PLoS Pathog*; **5**: 1000354.
271. Klausen M, Heydorn A, Ragas P (2003). Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. *Mol. Microbiol*; **48**: 1511–1524
272. Martin DW, Schurr MJ, Mudd MH (1993). Mechanism of conversion to mucoidy in *Pseudomonas aeruginosa* infecting cystic fibrosis patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; **90**: 8377–8381.

273. Mathee K, Ciofu O, Sternberg C (1999). Mucoïd conversion of *Pseudomonas aeruginosa* by hydrogen peroxide: a mechanism for virulence activation in the cystic fibrosis lung. *Microbiology*; **145**: 1349 –1357.
274. Govan JR, Deretic V (1996). Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoïd *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiol. Rev*; **60**: 539 –574.
275. Ramsey DM, Wozniak DJ (2005). Understanding the control of *Pseudomonas aeruginosa* alginate synthesis and the prospects for management of chronic infections in cystic fibrosis. *Mol. Microbiol*; **56**: 309 –322.
276. DeVries CA, Ohman DE (1994). Mucoïd-to-nonmucoïd conversion in alginate-producing *Pseudomonas aeruginosa* often results from spontaneous mutations in algT, encoding a putative alternate sigma factor, and shows evidence for autoregulation. *J. Bacteriol*; **176**: 6677– 6687.
277. Stapper AP, Narasimhan G, Ohman DE et al (2004). Alginate production affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development and architecture, but is not essential for biofilm formation. *J. Med. Microbiol*; **53**: 679–690.
278. Hay ID, Gatland K, Campisano A et al (2009). Impact of alginate overproduction on attachment and biofilm architecture of a supermucoïd *Pseudomonas aeruginosa* strain. *Appl. Environ. Microbiol*; **75**: 6022– 6025.
279. Baynham PJ, Wozniak DJ (1996). Identification and characterization of AlgZ, an AlgT-dependent DNA-binding protein required for *Pseudomonas aeruginosa* algD transcription. *Mol. Microbiol*; **22**: 97–108.
280. Baynham PJ, Ramsey DM, Gvozdyev BV et al (2006). The *Pseudomonas aeruginosa* ribbon-helix-helix DNA-binding protein AlgZ (AmrZ) controls twitching motility and biogenesis of type IV pili. *J. Bacteriol*; **188**: 132–140.
281. Tart AH, Blanks MJ, Wozniak DJ (2006). The AlgT-dependent transcriptional regulator AmrZ (AlgZ) inhibits flagellum biosynthesis in mucoïd, nonmotile *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis isolates. *J. Bacteriol*; **188**: 6483– 6489.
282. Ghafoor A, Hay ID, Rehm BHA (2011). Role of exopolysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and architecture. *Appl Environ Microbiol*; **77**: 5238 –5246.
283. Mishra M, Byrd MS, Sergeant S et al (2012). *Pseudomonas aeruginosa* Psl polysaccharide reduces neutrophil phagocytosis and the oxidative response by limiting complement-mediated opsonization. *Cell. Microbiol*; **14**: 95–106.

284. DiGiandomenico A, Warrenner P, Hamilton M et al (2012). Identification of broadly protective human antibodies to *Pseudomonas aeruginosa* exopolysaccharide Psl by phenotypic screening. *J. Exp. Med*; **209**: 1273–1287.
285. Wozniak DJ, Wyckoff TJO, Starkey M (2003). Alginate is not a significant component of the extracellular polysaccharide matrix of PA14 and PAO1 *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U SA*; **100**: 7907–7912.
286. Shen K, Sayeed S, Abdul BS et al (2002). Extensive genomic plasticity in *Pseudomonas aeruginosa* revealed by identification and distribution studies of novel genes among clinical isolates. *Infect Immun*; **74**: 5272–5283.
287. Ma L, Wang J, Wang S et al (2012). Synthesis of multiple *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix exopolysaccharides is post-transcriptionally regulated. *Environ. Microbiol*; **14**: 1995–2005.
288. Wozniak DJ, Sprinkle AB, Baynham PJ (2003). Control of *Pseudomonas aeruginosa* algZ expression by the alternative sigma factor AlgT. *J. Bacteriol*; **185**: 7297–7300
289. Wozniak DJ, Ohman DE (1991). *Pseudomonas aeruginosa* AlgB, a two component response regulator of the NtrC family, is required for algD transcription. *J. Bacteriol*; **173**: 1406 –1413.
290. Yu H, Mudd M, Boucher JC et al (1997). Identification of the algZ gene upstream of the response regulator algR and its participation in control of alginate production in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol*; **179**: 187–193.
291. Pryor EE, Waligora EA, Xu B et al (2012). The transcription factor AmrZ utilizes multiple DNA binding modes to recognize activator and repressor sequences of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes. *PLoS Pathog*; **8**: 1002648.
292. Waligora EA, Ramsey DM, Pryor EE et al (2010). AmrZ beta-sheet residues are essential for DNA binding and transcriptional control of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes. *J. Bacteriol*; **192**: 5390 –5401.
293. He J, Baldini RL, De'ziel E et al (2004). The broad host range pathogen *Pseudomonas aeruginosa* strain PA14 carries two pathogenicity island harboring plant and animal virulence genes. *Proc Natl Acad Sci USA*; **101**: 2530–2535.
294. Römling U, Greipel J, Tümmler B (1995). Gradient of genomic diversity in the *Pseudomonas aeruginosa* chromosome. *Mol Microbiol*; **17**: 323–332.

295. Römling U, Schmidt KD, Tümmler B (1997). Large genome rearrangement discovered by the detailed analysis of 21 *Pseudomonas aeruginosa* clone C isolates found in environment and disease habitats. *J Mol Biol*; **271**: 386–404.
296. Spencer DH, Kas A, Smith EE et al (2003). Whole genome sequence variation among multiple isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*; **185**: 1316–1325.
297. Stover CK, Pham XQ, Erwin AL et al (2000). Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature*; **406**: 959–964.
298. Tümmler B (2006). Clonal variations in *Pseudomonas aeruginosa*. In: Ramos JL, Levesque RC, editors. *Pseudomonas*. Heidelberg, Germany: Springer; **4**: 5–68.
299. Woods DE (2004). Comparative genomic analysis of *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *Trend Microbiol*; **12**: 437–439.
300. Westman EL, Matewish M, Lam JS (2010). *Pseudomonas*. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer JG, Thoen CO, editors. *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. Fourth ed. Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell. 443–468.
301. Palleroni NJ (2008). The road to the taxonomy of *Pseudomonas*. In: Cornelis P, editor. *Pseudomonas: Genomic and Molecular Biology*. Norfolk: Caister Academic Press. 1–18.
302. Khan NH, Ishii Y, Kimata-Kino N et al (2007). Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from open ocean and comparison with freshwater, clinical, and animal isolates. *Microb Ecol*; **53**: 173–186.
303. Pirnay JP, Matthijs S, Colak H et al (2005). Global *Pseudomonas aeruginosa* biodiversity as reflected in a Belgian river. *Environ Microbiol*; **7**: 969–980.
304. Tan MW (2002). Cross-species infections and their analysis. *Annu Rev Microbiol*; **56**: 539–565.
305. Wolfgang MC, Kulasekara BR, Liang X et al (2003). Conservation of genome content and virulence determinants among clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA*; **100**: 8484–8489.
306. Gorgani NAS, Patterson A, Pourmand N (2009). Detection of point mutations associated with antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents*; **34**: 414–418.
307. Oliver A, Baquero F, Blazquez J (2002). The mismatch repair system (mutS, mutL and uvrD genes) in *Pseudomonas aeruginosa*: molecular characterization of naturally occurring mutants. *Mol Microbiol*; **43**: 1641–1650.

308. Cramer N, Wiehlmann L, Ciofu O et al (2012). Molecular epidemiology of chronic *Pseudomonas aeruginosa* airway infections in cystic fibrosis. PLoS One; **7**: 50731.
309. Klockgether J, Cramer N, Wiehlmann L et al (2011). *Pseudomonas aeruginosa* genomic Structure and diversity. Front Microbiol **2**: 150.
310. Sham PC, Curtis D (1995). Monte Carlo tests for associations between disease and alleles at highly polymorphic loci. Ann Hum Genet; **59**: 97–105.
311. Liang X, Pham XQ, Olson M et al (2000). Identification of a genomic island present in the majority of pathogenic isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. J Bacteriol; **183**: 843–853.
312. Larbig KD, Christmann A, Johann A et al (2002). Gene islands integrated into tRNAGly genes confer genome diversity on a *Pseudomonas aeruginosa*. J Bacteriol; **184**: 6665–6680.
313. Würdermann D, Tümmler B (2007). In silico comparison of pKLC102-like genomic islands of *Pseudomonas aeruginosa*. FEMS Microbiol Lett; **275**: 244–249.
314. Qiu X, Gurkar AU, Lory S (2006). Interstrain transfer of the large pathogenicity island (PAPI-1) of *Pseudomonas aeruginosa*. Proc Natl Acad Sci USA; **103**: 19830–09835.
315. Klockgether J, Reva O, Larbig K et al (2004). Sequence analysis of themobile genome island pKLC102 of *Pseudomonas aeruginosa* C. J Bacteriol; **186**: 518–534.
316. Klockgether J, Würdemann D, Reva O et al (2007). Diversity of the abundant pKLC102/PAGI-2 family of genomic islands in *Pseudomonas aeruginosa*. J Bacteriol; **189**: 2443–2459.
317. Dobrindt U, Hochhut B, Hentschel U et al (2004). Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms. Nat Rev Microbiol; **2**: 414–424.
318. Hacker J, Kaper JB (2000). Pathogenicity islands and the evolution of microbes. Annu Rev Microbiol; **54**: 641–679.
319. Juhas M, van der Meer JR, Gaillard M et al (2008). Genomic island: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution. FEMS Microbiol Rev; **33**: 376–393.
320. Kaper JB, Hacker J (1999). Pathogenicity islands and other mobile virulence elements. Washington DC: American Society of Microbiology; 346.
321. Dobrindt U, Agerer F, Michaelis K et al (2003). Analysis of genome plasticity in pathogenic and commensal *Escherichia coli* isolates by use of DNA arrays. J Bacteriol; **185**: 1831–1840.

322. Schmid KD, Tümmler B, Römmling U (1996). Comparative genome mapping of *Pseudomonas aeruginosa* PAO with *P.aeruginosa* C, which belongs to a major clone in cystic fibrosis patients and aquatic habitats. *J Bacteriol*; **178**: 85–93.
323. Lee DG, Urbach JM, Wu G et al (2006). Genomic analysis reveals that *Pseudomonas aeruginosa* virulence is combinational. *Genome Biol*; **7**: 90.
324. Mohd-Zain Z, Turner SL, Cerdén-Ta'rraga AM et al (2004). Transferable antibiotic resistance elements in *Haemophilus influenzae* share a common evolutionary origin with a diverse family of syntenic genomic islands. *J Bacteriol*; **186**: 8114–8122.
325. Finnan S, Morrissey JP, O'Gara F et al (2004). Genome diversity of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients and the hospital environment. *J Clin Microbiol*; **42**: 5783–5792.
326. Gaballa A, Baysse C, Koedam N et al (1998). Different residues in periplasmic domains of the CcmC inner membrane protein of *Pseudomonas fluorescens* ATCC 17400 are critical for cytochrome c biogenesis and pyoverdine-mediated iron uptake. *Mol Microbiol*; **30**: 547–555.
327. Regelman WE, Sieffman CM, Herrom JM et al (1995). Sputum peroxidase activity correlates with the severity of lung disease in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*; **19**: 1–9.
328. Harrison EM, Carter ME, Luck S et al (2010). Pathogenicity island PAPI-1 and PAPI-2 contribute individually and synergistically to the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* strain PA14. *Infect Immun*; **78**: 1437–1446
329. Drenkard E, Ausubel FM (2002). *Pseudomonas* biofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. *Nature*; **416**: 740–743.
330. Kulasekara BR, Kulasekara HD, Wolfgang MC et al (2006). Acquisition and evolution of the *exoU* locus in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*; **188**: 4037–4050.
331. Schulert GS, Feltman H, Rabin SD et al (2003). Secretion of the toxin ExoU is a marker for highly virulent *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from patients with hospital-acquired pneumonia. *J Infect Dis*; **188**: 1695–1706.
332. Shaver CM, Hauser AR (2004). Relative contributions of *Pseudomonas aeruginosa* ExoU, ExoS, and ExoT to virulence in the lung. *Infect Immun*; **72**: 6969–6977.

333. Engel J, Balachandran P (2009). Role of *Pseudomonas aeruginosa* type III effectors in disease. *Curr Opin Microbiol*; **12**: 61–66.
334. Hauser AR (2009). The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: infection by injection. *Nat Rev Microbiol*; **7**: 654–665.
335. Veessenmeyer JL, Hauser AR, Lisboa T et al (2009). *Pseudomonas aeruginosa* virulence and therapy: evolving translational strategies. *Crit Care Med*; **37**: 1777–1786.
336. Lee VT, Smith RS, Tummler B Lory S (2001). Activities of *Pseudomonas aeruginosa* effectors secreted by the type III secretion system in vitro and during infection. *Infect Immun* 2005; **73**: 1695-1705.
337. Feltman H, Schulert G, Khan S et al. (2001). Prevalence of type III secretion genes in clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*; **147**: 2659–2669.
338. Roy-Burman A, Savel RH, Racine S et al (2001). Type III protein secretion is associated with death in lower respiratory and systemic *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Infect Dis*; **183**: 1767–1774.
339. El Solh AA, Akinnusi ME, Wiener-Kronish JP et al (2008). Persistent infection with *Pseudomonas aeruginosa* in ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*; **178**: 513–519.
340. El-Solh AA, Hattemer A, Hauser AR (2012). Clinical outcomes of type III *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. *Crit Care Med.* ; **40**: 1157–1163.
341. Ballarini A, Scalet G, Kos M et al (2012). Molecular typing and epidemiological investigation of clinical populations of *Pseudomonas aeruginosa* using an oligonucleotide-microarray. *BMC Microbiology*; **12**:152
342. Finck-Barbancon V, Goranson J, Zhu L et al (1997). ExoU expression by *Pseudomonas aeruginosa* correlates with acute cytotoxicity and epithelial injury. *Mol Microbiol*; **25**: 547–557.
343. Rakhimova E, Wiehlmann L, Brauer AL et al (2009). *Pseudomonas aeruginosa* population biology in chronic obstructive pulmonary disease. *J Infect Dis*; **200(12)**: 1928–1935.
344. Falagas ME, Karageorgopoulos DE (2008). Pandrug resistance (PDR), extensive drug resistance (XDR), and multidrug resistance (MDR) among Gram-negative bacilli: need for international harmonization in terminology. *Clin Infect Dis*; **46**: 1121–1122.

345. Curran B, Jonas D, Grundmann H et al (2004). Development of a multilocus sequence typing scheme for the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. J Clin Microbiol; **42**: 5644–5649.
346. Jain M, Ramirez D, Seshadri R et al (2004). Type III secretion phenotypes of *Pseudomonas aeruginosa* strains change during infection of individuals with cystic fibrosis. J Clin Microbiol; **42**: 5229-5237.
347. Wareham DW, Curtis MA. A genotypic and phenotypic comparison of type III secretion profiles of *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis and bacteremia isolates (2007). Int J Med Microbiol; **297**: 227-234.
348. Jain M, Bar-Meir M, McColley S et al (2008). Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion in cystic fibrosis: a paradigm of chronic infection. Transl Res; **152**: 252-264.
349. Hu H, Harmer C, Anuj S et al (2013). Type 3 secretion system genotype and secretion phenotype of longitudinally collected *Pseudomonas aeruginosa* isolates from young children diagnosed with cystic fibrosis following newborn screening. Clin. Microbiol Infect 2013; **19**: 266-272.
350. Johnson JK, Arduino SM, Stine OC et al (2007). Multilocus sequence typing compared to pulsedfield gel electrophoresis for molecular typing of *Pseudomonas aeruginosa*. J Clin Microbiol; **45**: 3707–3712.
351. Onteniente L, Brisse S, Tassios PT et al (2003). Evaluation of the polymorphisms associated with tandem repeats for *Pseudomonas aeruginosa* strain typing. J Clin Microbiol; **41**: 4991–4997.
352. Vu-Thien H, Corbineau G, Hormigos K et al (2007). Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis for longitudinal survey of sources of *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients. J Clin Microbiol; **45**: 3175–3183.
353. Wang J, Zhou ZJ, Qu TT et al (2010). Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Chinese hospitals. Int J Antimicrob Agents; **35(5)**: 486–491.
354. Wolter DJBJ, Lister PD, Hanson ND (2009). Multiple genotypic changes in hypersusceptible strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients do not always correlate with the phenotype. J Antimicrob Chemother; **64**: 294–300.

355. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND (2009). Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev; **22**: 582–610.
356. Shu JC, Chia JH, Siu LK (2012). Interplay between mutational and horizontally acquired resistance mechanisms and its association with carbapenem resistance amongst extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (XDR-PA). Int J Antimicrob Agents; **39**: 217-222.
357. Tsuchimochi N, Takuma T, Shimono N et al (2008). Antimicrobial susceptibility and molecular epidemiological analysis of clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. J Infect Chemother; **14**: 99–104.
358. Jayakumar S, Appalaraju B (2007). Prevalence of multi and pan drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* with respect to ESBL and MBL in a tertiary care hospital. Indian J Pathol Microbiol; **50**: 922–925.
359. Shahcheraghi F, Badmasti F, Feizabadi MM (2010). Molecular characterization of class 1 integrons in MDR *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical settings in Iran, Tehran. FEMS Immunol Med Microbiol; **58**: 421–425.
360. Souli M, Galani I, Giamarellou H (2008). Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. Euro Surveill; **13**:19045.
361. Kallen AJ, Hidron AI, Patel J et al (2006). Multidrug resistance among Gram negative pathogens that caused healthcare-associated infections reported to the National Healthcare Safety Network, 2006–2008. Infect Control Hosp Epidemiol; **31**: 528–531.
362. Fritsche TR, Sader HS, Toleman MA et al (2005). Emerging metallo- β lactamase-mediated resistances: a summary report from the worldwide SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Clin Infect Dis; **41(Suppl.4)**: 276–278.
363. Gales AC, Menezes LC, Silbert et al (2003). Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo-beta-lactamase. J. Antimicrob. Chemother; **52**: 699 –702.
364. Franco MR, Caiaffa-Filho HH, Burattini MN et al (2010). Metallobeta-lactamases among imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian university hospital. Clinics (São Paulo); **65**: 825– 829.
365. Zavascki AP, Gaspareto PB, Martins AF et al (2005). Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM-1 metallo-beta-

- lactamase in a teaching hospital in southern Brazil. *J. Antimicrob. Chemother*; **56**: 1148–1151.
366. Vettoretti L, Floret N, Hocquet D et al (2009). Emergence of extensive-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a French university hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; **28**: 1217–1222.
 367. Tam VH, Chang KT, Abdelraouf K et al (2010). Prevalence, resistance mechanisms, and susceptibility of multidrug-resistant bloodstream isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*; **54**: 1160–1164.
 368. Riera E, Cabot G, Mulet X et al (2011). *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem resistance mechanisms in Spain: impact on the activity of imipenem, meropenem and doripenem. *J Antimicrob Chemother*; **66**: 2022–2027.
 369. Nordmann P, Ronco E, Naas T et al (1993). Characterization of a novel extended-spectrum β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*; **37**: 962–969.
 370. Aktas, Z, Poirel L, Salcioglu M et al (2005). PER-1 and OXA-10-like β -lactamases in ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from intensive care unit patients in Istanbul, Turkey. *Clin Microbiol Infect*; **11**: 193–198.
 371. Yakupogullari Y, Poirel L, Bernabeu S et al (2008). Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate co-expressing extended-spectrum β -lactamase PER-1 and metallo- β -lactamase VIM-2 from Turkey. *J Antimicrob Chemother*; **61**: 221–2.
 372. Hocquet D, Ple'siat P, Dehecq B et al (2010). Nationwide investigation of extended-spectrum β -lactamases, metallo- β -lactamases, and extended-spectrum oxacillinases produced by ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in France. *Antimicrob Agents Chemother*; **54**: 3512–3515.
 373. Claeys G, Verschraegen G, de Baere T et al (2000). PER-1 β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. *J Antimicrob Chemother*; **45**: 924–925.
 374. Glupczynski Y, Bogaerts P, Deplano A et al (2010). Detection and characterization of class A extended-spectrum- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Belgian hospitals. *J Antimicrob Chemother*; **65**: 866–871.
 375. Pagani L, Mantengoli E, Migliavacca R et al (2004). Multifocal detection of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing the PER-1 extended-spectrum β -lactamase in Northern Italy. *J Clin Microbiol*; **42**: 2523–2529.

376. Mirsalehian A, Feizabadi M, Nakhjavani FA et al (2010). Detection of VEB-1, OXA-10 and PER-1 genotypes in extended-spectrum β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. *Burns*; **36**: 70–74.
377. Yamano Y, Nishikawa T, Fujimura T et al (2006). Occurrence of PER-1 producing clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Japan and their susceptibility to doripenem. *J Antibiot*; **59**: 791–796.
378. Kotsakis SD, Papagiannitsis CC, Tzelepi E et al (2010). GES-13, a β -lactamase variant possessing Lys-104 and Asn-170 in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*; **54**: 1331–1333.
379. Poirel L, Lebessi E, Castro M et al (2004). Nosocomial outbreak of extended-spectrum β -lactamase SHV-5-producing isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Athens, Greece. *Antimicrob Agents Chemother*; **48**: 2277–2279.
380. Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P et al (2003). Ambler class A extended-spectrum β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother*; **47**: 2385–2392.
381. Ranellou K, Kadlec K, poulou A et. Al (2011). Detection of *Pseudomonas aeruginosa* isolates of the international clonal complex 11 carrying the bla_{PER-1} extended-spectrum β -lactamase gene in Greece. *J Antimicrob Chemother*; **67**: 357–361.
382. Rodríguez-Martínez JM, Poirel L, Nordmann P (2009). Extended-spectrum cephalosporinases in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*; **53**: 1766–1771.
383. Rodríguez-Martínez JM, Poirel L, Nordmann P (2009). Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*; **53**: 4783–4788.
384. Trias J, Nikaido H (1990). Outer membrane protein D2 catalyzes facilitated diffusion of carbapenems and penems through the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*; **34**: 52–57.
385. Livermore DM (1992). Interplay of impermeability and chromosomal β -lactamase activity in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*; **36**: 2046–2048.
386. Quale J, Bratu S, Gupta J et al (2006). Interplay of efflux system, ampC, and oprD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother*; **50**: 1633–1641.

387. Tomás M, Doumith M, Warner M et al (2010). Efflux pumps, OprD porin, AmpC β -lactamase, and multiresistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother*; **54**: 2219–2224.
388. Zhao WH, Chen G, Ito R et al (2009). Relevance of resistance levels to carbapenems and integron-borne blaIMP-1, blaIMP-7, blaIMP-10 and blaVIM-2 in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Microbiol*; **58**: 1080–1085.
389. Sohn ES, Yoo JS, Lee JK et al (2007). Investigation of β -lactamase producing multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from non-tertiary care hospitals in Korea. *J Microbiol Biotechnol*; **17**: 1733–1737.
390. Nicolau JC, Oliver A. et al (2010). Carbapenemases in *Pseudomonas* spp. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin*; **28(Suppl 1)**: 19 –28.
391. Lutz L, Leão RS, Ferreira AG, Pereira DC, Raupp C, Pitt T, Marques EA, Barth AL (2013). Hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis Patients from Two Brazilian Cities. *J Clin Microbiol*; **51**: 927-930.
392. Paixao VA, Barros TF, Mota CM et al (2010). Prevalence and antimicrobial susceptibility of respiratory pathogens in patients with cystic fibrosis. *Braz J. Infect. Dis*; **14**: 406–409.
393. Mouneimné H, Robert J, Jarlier V, Cambau E (1999). Type II topoisomerase mutations in ciprofloxacin-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*; **45**: 62-66.
394. Nakano M, Deguchi T, Kawamura T et al (1997). Mutations in the gyrA and parC genes in flouroquinolone-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*; **41**: 2289-2291.
395. Higgins PG, Fluit AC, Milatovic D et al (2003). Mutations in Gyr A, Par C, MexR and NfxB in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents*; **21(5)**: 409-413.
396. Hooper DC (2001). Emerging mechanisms of flouroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis*; **7**: 337-341.
397. Akasaka T, Onodera Y, Tanaka M, Sato K (1999). Cloning, expression, and enzymatic characterization of *Pseudomonas aeruginosa* topoisomerase IV. *Antimicrob Agents Chemother*; **43**: 530-536.

398. Breidenstein EB, de la Fuente-Núñez C, Hancock RE (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. Trends Microbiol; **19**: 419-426.
399. Hsu DI, Okamoto MP, Murthy R, Wong-Beringer A (2005). Fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* risk factors for acquisition and impact on outcomes. J Antimicrob Chemother; **55**: 535-541.
400. Wong-Beringer A, Wiener-Kronish J, Lynch S, Flanagan J (2008). Comparison of type III secretion system virulence among fluoroquinolone-susceptible and resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Microbiol Infect; **14**: 330-336.
401. Garey KW, Vo QP, Larocco MT, Gentry LO, Tam VH (2008). Prevalence of type III secretion protein exoenzymes and antimicrobial susceptibility patterns from bloodstream isolates of patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. J Chemother; **20**: 714-720.
402. Zhu H, Conibear TC, Bandara R et al (2006). Type III secretion system-associated toxins, proteases, serotypes, and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates associated with keratitis. Curr Eye Res; **31**: 297-306.
403. Agnello M, Wong-Beringer A (2012). Differentiation in quinolone resistance by virulence genotype in *Pseudomonas aeruginosa*. Plos One; **7**: 42973.
404. Cirz RT, O'Neill BM, Hammond JA, Head SR, Romesberg FE (2006). Defining the *Pseudomonas aeruginosa* SOS response and its role in the global response to the antibiotic ciprofloxacin. J Bacteriol; **188**: 7101-7110.
405. Fegan M, Francis P, Hayward AC, Davis GH, Fuerst JA (1990). Phenotypic conversion of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. J Clin Microbiol **28**: 1143-1146
406. Kosorok MR, Jalaluddin M, Farrell PM et al (1998). Comprehensive analysis of risk factors for acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* in young children with cystic fibrosis. Pediatr Pulmonol; **26(2)**: 81-88.
407. De Braekeleer M, Allard C, Leblanc JP et al (1998). Genetic determinants of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in cystic fibrosis patients in Canada. Eur J Clin Microbiol Infect Dis; **17(4)**: 269-271.

408. Goubau C, Wilschanski M, Skalicka V et al (2009). Phenotypic characterisation of patients with intermediate sweat chloride values: towards validation of the European diagnostic algorithm for cystic fibrosis. *Thorax*; **64(8)**: 683–691.
409. Green DM, McDougal KE, Blackman SM et al (2010). Mutations that permit residual CFTR function delay acquisition of multiple respiratory pathogens in CF patients. *Respir Res*; **11**: 140.
410. Wang SS, FitzSimmons SC, O'Leary LA et al (2001). Early diagnosis of cystic fibrosis in the newborn period and risk of *Pseudomonas aeruginosa* acquisition in the first 10 years of life: a registry-based longitudinal study. *Pediatrics*; **107(2)**: 274–279.
411. Sims EJ, McCormick J, Mehta G et al (2005). Neonatal screening for cystic fibrosis is beneficial even in the context of modern treatment. *J Pediatr*; **147(3 Suppl.)**: 42–46.
412. Baussano I, Tardivo I, Bellezza-Fontana R et al (2006). Neonatal screening for cystic fibrosis does not affect time to first infection with *Pseudomonas aeruginosa*. *Pediatrics*; **118(3)**: 888–895.
413. Treggiari MM, Rosenfeld M, Mayer-Hamblett N et al (2009). Early anti-pseudomonal acquisition in young patients with cystic fibrosis: rationale and design of the EPIC clinical trial and observational study. *Contemp Clin Trials*; **30(3)**: 256–268.
414. Rosenfeld M, Emerson J, McNamara S et al (2010). Baseline characteristics and factors associated with nutritional and pulmonary status at enrollment in the cystic fibrosis EPIC observational cohort. *Pediatr Pulmonol*; **45(9)**: 934–944.
415. Johansen HK, Hoiby N (1992). Seasonal onset of initial colonisation and chronic infection with *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis in Denmark. *Thorax*; **47**: 109–111.
416. Koch C (2002). Early infection and progression of cystic fibrosis lung disease. *Pediatr Pulmonol*; **34**:232–236.
417. Martin C, Ichou MA, Massicot P et al (1995). Genetic diversity of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with cystic fibrosis revealed by restriction fragment length polymorphism of the rRNA gene region. *J Clin Microbiol*; **33**: 1461–1466.
418. Smith EE, Buckley DG, Wu Z et al (2006). Genetic adaptation by *Pseudomonas aeruginosa* to the airways of cystic fibrosis patients. *Proc Natl Acad Sci USA*; **103**: 8487–8492.

419. Rau MH, Hansen SK, Johansen HK et al (2010). Early adaptive developments of *Pseudomonas aeruginosa* after the transition from life in the environment to persistent colonization in the airways of human cystic fibrosis hosts. *Environ Microbiol*; **12**: 1643–1658.
420. Cabral DA, Loh BA, Speert DP (1987). Muroid *Pseudomonas aeruginosa* resists nonopsonic phagocytosis by human neutrophils and macrophages. *Pediatr Res*; **22**: 429–431.
421. Meshulam T, Obedeau N, Merzbach D et al (1984). Phagocytosis of mucoid and nonmucoid strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Immunol Immunopathol*; **32**: 151–165.
422. Simpson JA, Smith SE, Dean RT (1989). Scavenging by alginate of free radicals released by macrophages. *Free Radic Biol Med*; **6**: 347–353.
423. Pedersen SS, Kharazmi A, Espersen F (1990). *Pseudomonas aeruginosa* alginate in cystic fibrosis sputum and the inflammatory response. *Infect Immun*; **58**: 3363–3368.
424. Bjarnsholt T, Jensen PO, Jakobsen TH, Phipps R, Nielsen AK, Rybtke MT, (2010). Quorum sensing and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* during lung infection of cystic fibrosis patients. *PLoS ONE*; **5**: 10115.
425. Bjarnsholt T, Jensen PO, Fiandaca MJ et al (2009). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol*; **44**: 547–558.
426. Moser C, van GM, Bjarnsholt T et al (2009). Novel experimental *Pseudomonas aeruginosa* lung infection model mimicking long-term host–pathogen interactions in cystic fibrosis. *APMIS*; **117**: 95–107.
427. Worlitzsch D, Tarran R, Ulrich M et al (2002). Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway *Pseudomonas* infections of cystic fibrosis patients. *J Clin Invest*; **109**: 317–325.
428. Kolpen M, Hansen CR, Bjarnsholt T et al (2010). Polymorphonuclear leucocytes consume oxygen in sputum from chronic *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in cystic fibrosis. *Thorax*; **65**: 57–62.
429. Barth AL, Pitt TL (1996). The high amino-acid content of sputum from cystic fibrosis patients promotes growth of auxotrophic *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Microbiol*; **45**: 110–119.

430. Palmer KL, Mashburn LM, Singh PK et al (2005). Cystic fibrosis sputum supports growth and cues key aspects of *Pseudomonas aeruginosa* physiology. J Bacteriol; **187**: 5267–5277.
431. Mougous JD, Cuff ME, Raunser S et al (2006). A virulence locus of *Pseudomonas aeruginosa* encodes a protein secretion apparatus. Science; **312**: 1526–1530.
432. Salunkhe P, Topfer T, Buer J et al (2005). Genome-wide transcriptional profiling of the steady-state response of *Pseudomonas aeruginosa* to hydrogen peroxide. J Bacteriol; **187**: 2565–2572.
433. Oliver A, Canto'n R, Campo P et al (2000). High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. Science; **288**: 1251–1254.
434. Ciofu O, Riis B, Pressler T et al (2005). Occurrence of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients is associated with the oxidative stress caused by chronic lung inflammation. Antimicrob Agents Chemother; **49**: 2276–2282.
435. Oliver A, Mena A (2010). Bacterial hypermutation in cystic fibrosis, not only for antibiotic resistance. Clin Microbiol Infect; **16**: 798–808.
436. Mena A, Smith EE, Burns JL et al (2008). Genetic adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to the airways of cystic fibrosis patients is catalyzed by hypermutation. J Bacteriol; **190**: 7910–7917.
437. Feliziani S, Luja'n AM, Moyano AJ et al (2010). Mucoidy, quorum sensing, mismatch repair and antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* from cystic fibrosis chronic airways infections. PLoS One; **5**: 12669.
438. Luja'n AM, Macia' MD, Yang L et al (2011). Evolution and adaptation in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms driven by mismatch repair system-deficient mutators. PLoS One; **6**: 27842.
439. Hoboth C, Hoffmann R, Eichner A et al (2009). Dynamics of adaptive microevolution of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* during chronic pulmonary infection in patients with cystic fibrosis. J Infect Dis; **200**: 118–130.
440. Ferroni A, Guillemot D, Moumille K et al (2009). Effect of mutator *P.aeruginosa* on antibiotic resistance acquisition and respiratory function in cystic fibrosis. Pediatr Pulmonol; **44**: 820–825.

441. Henrichfreise B, Wiegand I, Pfister W (2007). Resistance mechanisms of multiresistant *Pseudomonasaeruginosa* strains from Germany and correlation with hypermutation. *Antimicrob Agents Chemother*; **51**: 4062–4070.
442. Speert DP, Campell ME, Henry DA et al (2002). Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis in British Columbia, Canada. *Am J Respir Crit Care Med*; **166**; 988-993.
443. Smart CH, Walshaw MJ, Hart CA, Winstanley C (2006). Use of supression subtractive hybridization to examine the accessory genome of the Liverpool cystic fibrosis epidemic strain of *Pseudomona aeruginosa*. *J Med Microbiol*; **55**: 677-688.
444. Anthony M, Rose B, Pegler MB et al (2002). Genetic analysis of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from sputa of Australian adult cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol*; **40**: 2772-2778.
445. Aaron SD, Vandemheen KL, Ramotar K et al (2010). Infection with transmissible strains of *Pseudomonas aeruginosa* and clinical outcomes in adults with cystic fibrosis. *JAMA*; **304**: 2145–2153.
446. McCallum SJ, Corkill J, Gallagher et al (2001). Superinfection with a transmissible strain of *Pseudomonas aeruginosa* in adults with cystic fibrosis chronically colonised by P aeruginosa. *Lancet* **358**; 558–560.
447. McCallum SJ, Gallagher MJ, Corkill et al (2002). Spread of an epidemic *Pseudomonas aeruginosa* strain from a patient with cystic fibrosis (CF) to non-CF relatives. *Thorax* **57**; 559–560.
448. Jones, AM, Dodd ME, Doherty CJ et al (2002). Increased treatment requirements of patients with cystic fibrosis who harbour a highly transmissible strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Thorax* **57**; 924–925.
449. Bradbury R, Champion A, Reid DW (2008). Poor clinical outcomes associated with a multi-drug resistant clonal strain of *Pseudomonas aeruginosa* in the Tasmanian cystic fibrosis population. *Respirology*; **13(6)**: 886–892.
450. Armstrong DS, Nixon GM, Carzino R et al (2002). Detection of a widespread clone of *Pseudomonas aeruginosa* in a pediatric cystic fibrosis clinic. *Am J Respir Crit Care Med*; **166(7)**: 983–987.
451. Cramer N, Wiehlmann L, Tummler B (2010). Clonal epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Int J Med Microbiol*; **300**: 526–533.

452. Kidd TJ, Ramsay KA, Hu H et al (2013). Shared *Pseudomonas aeruginosa* genotypes are common in Australian cystic fibrosis centers. *Eur Respir J*; **41**: 1091-1100.
453. Spencker FB, Haupt S, Claros MC et al (2000). Epidemiological characterization of *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Infect*; **6**: 600-607
454. Kenna DT, Doherty CJ, Foweraker J et al (2007). Hypermotability in environmental *Pseudomonas aeruginosa* and in populations causing pulmonary infection in individuals with cystic fibrosis. *Microbiology*; **153**: 1852–1859.
455. Mowat E, Paterson S, Fothergill JL et al (2011). *Pseudomonas aeruginosa* population diversity and turnover in cystic fibrosis chronic infections. *Am J Respir Crit Care Med*; **183**: 1674–1679.
456. Yang L, Jelsbak L, Marvig RL et al (2011). Evolutionary dynamics of bacteria in a human host environment. *Proc Natl Acad Sci USA*; **108**: 481–486.
457. Lopez-Causape CL, Rojo-Molinero E, Mulet X et al (2013). Clonal Dissemination, Emergence of Mutator Lineages and Antibiotic Resistance Evolution in *Pseudomonas aeruginosa* Cystic Fibrosis Chronic Lung Infection. *PLoS ONE*; **8(8)**: 71001.
458. Renders N, van Belkum A, Bath A, Goessens W, Mouton JW, Verbrugh H (1996). Typing of *Pseudomonas aeruginosa* strains from patients with cystic fibrosis: phenotypic versus genotyping. *Clin Microbiol Infect*; **1**: 261-265
459. Schmid J, Ling LJ, Leung JL et al (2008). *Pseudomonas aeruginosa* transmission is infrequent in New Zealand cystic fibrosis clinics. *Eur Respir J*; **32 (6)**: 1583–1590.
460. Brimicombe RW, Dijkshoorn L, van der Reijden TJ et al (2008). Transmission of *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis attending summer camps in Netherlands. *J Cyst Fibros*; **7**: 30-36.
461. McDowell A, Mahenthiralingam E, Dunbar KE et al (2004). Epidemiology of *Burkholderia cepacia* complex species recovered from cystic fibrosis patients: issues related to patient segregation. *J Med Microbiol*; **53**: 663–668.

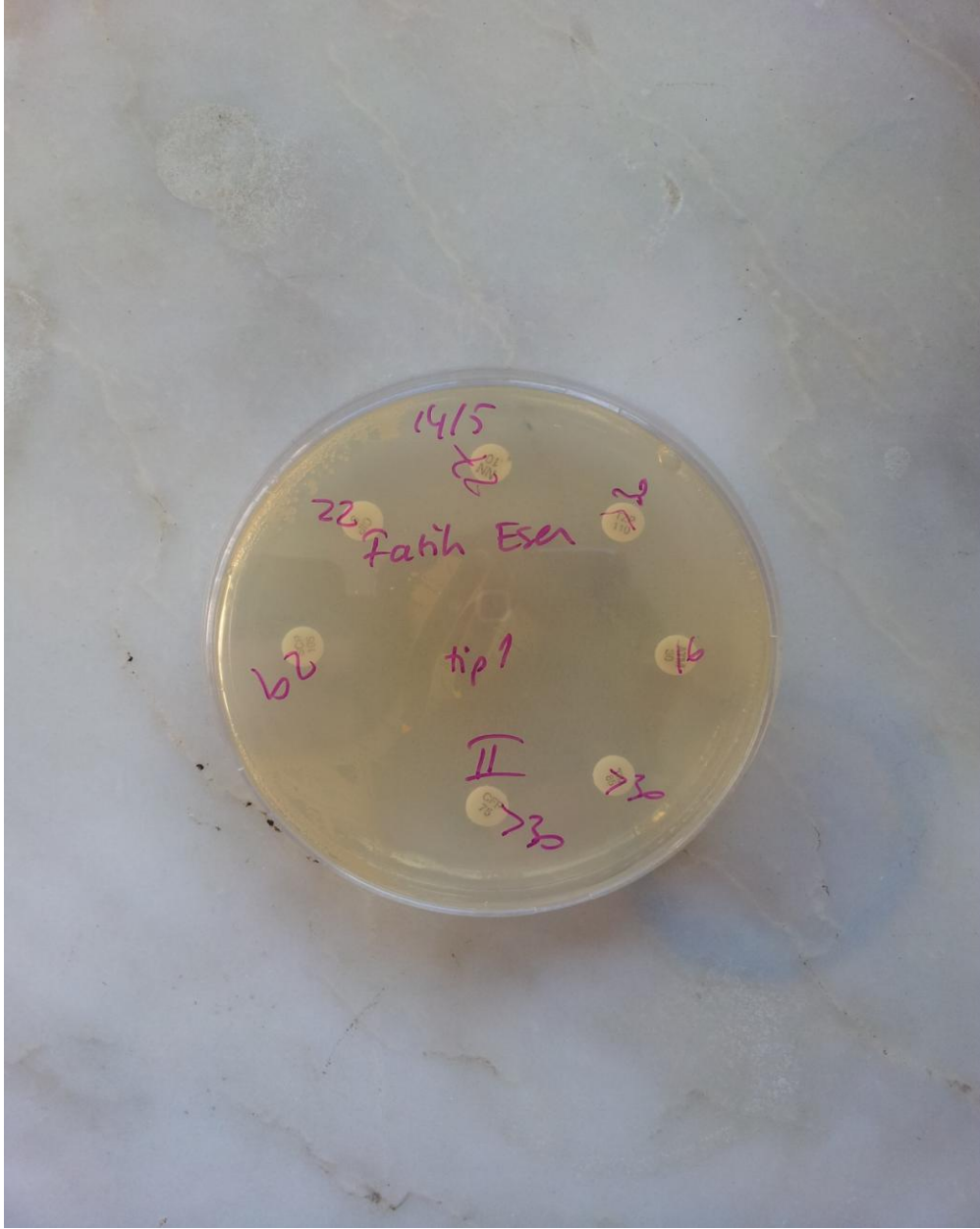
462. Durmaz R. Moleküler epidemiyolojinin prensipleri. Durmaz R (editör). Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2001: 139-147.
463. Cheng K, Smyth RL, Govan JR et al (1996). Spread of beta-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in acystic fibrosis clinic. Lancet; **348**: 639-642.
464. Lewis DA, Jones A, Parkhill J et al (2005). Identification of DNA markers for a transmissible *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis strain. Am J Respir Cell Mol Biol; **33**: 56-64.
465. Foweraker JE, Laughton CR, Brown DF, Bilton D (2005). Phenotypic variability of *Pseudomonas aeruginosa* in sputa from patients with acute infective exacerbation of cystic fibrosis and its impact on the validity of antimicrobial susceptibility testing. J Antimicrob Chemother; **55**: 921-927.
466. Ciofu O, Lee B, Johannesson M, Hermansen NO et al (2008). Investigation of the algT operon sequence in mucoid and non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates from 115 Scandinavian patients with cystic fibrosis and in 88 in vitro non-mucoid revertants. Microbiology; **1**: 103–113.
467. Bragonzi A, Paroni M, Nonis A et al (2009). *Pseudomonas aeruginosa* microevolution during cystic fibrosis lung infection establishes clones with adapted virulence. Am J Respir Crit Care Med; **180**: 138–145.
468. Römling U, Fiedler B, Bosshammer J et al (1994). Epidemiology of chronic *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. J Infect Dis; **170**: 1616–1621.
469. Hoboth C, Hoffmann R, Eichner A et al (2009). Dynamics of adaptive microevolution of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* during chronic pulmonary infection in patients with cystic fibrosis. J Infect Dis; **200**: 118–130.
470. Huse HK, Kwon T, Zlosnik JE et al (2010). Parallel evolution in *Pseudomonas aeruginosa* over 39,000 generations in vivo. MBio; **1**: 199–210.
471. Cramer N, Klockgether J, Wrasman K et al (2011). Microevolution of the major common *Pseudomonas aeruginosa* clones C and PA14 in cystic fibrosis lungs. Environ Microbiol; **13**: 1690–1704.
472. Pirnay JP, Bilocq F, Pot B et al (2009). *Pseudomonas aeruginosa* population structure revisited. PLoS One; **4**: 7740.

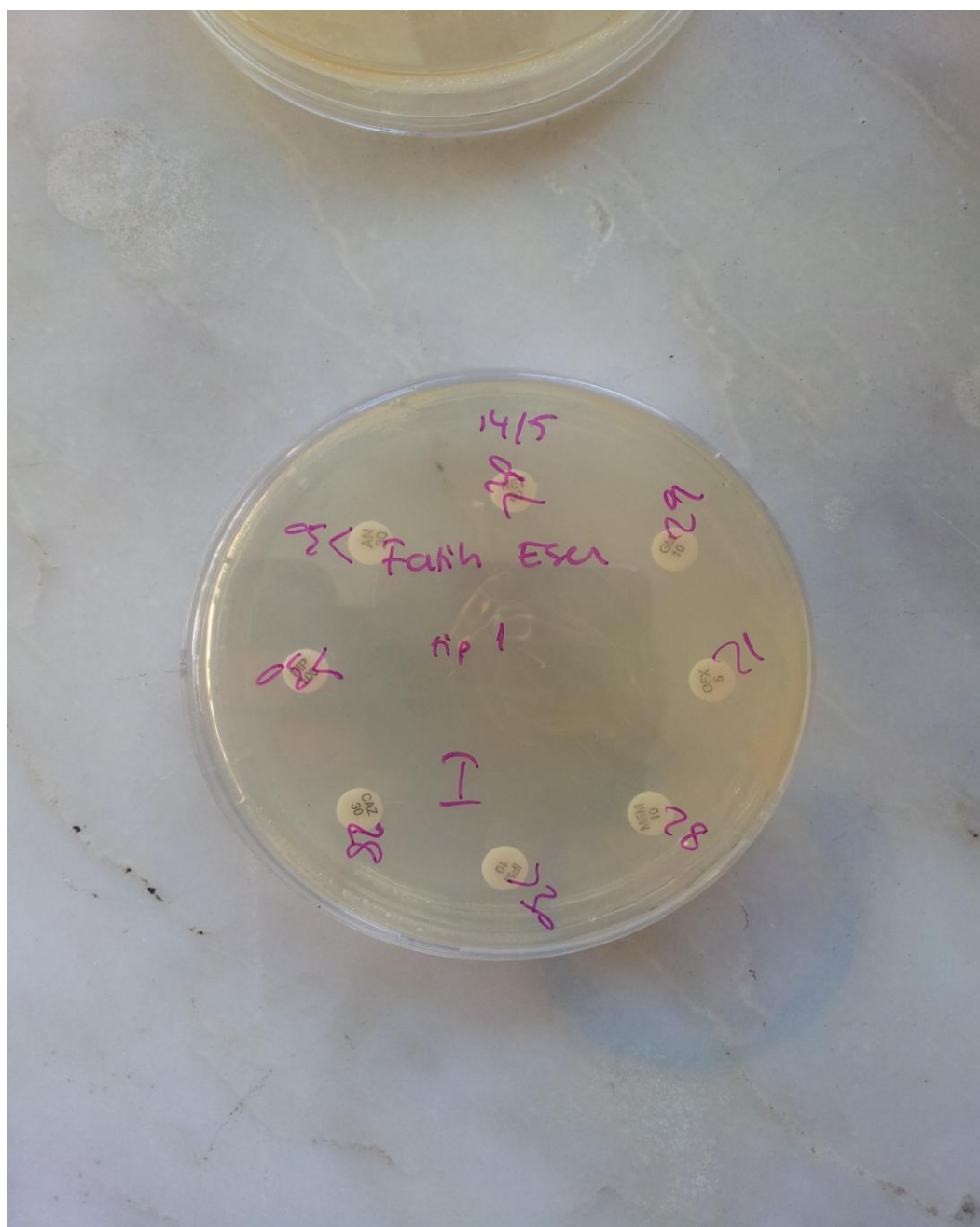
473. Romling U, Wingender J, Müller H et al (1994). A major *Pseudomonas aeruginosa* clone common to patients and aquatic habitats. Appl Environ Microbiol; **60**: 1734–1738.
474. Rahme LG, Stevens EJ, Wolfort SF et al (1995). Common virulence factors for bacterial pathogenicity in plants and animals. Science; **268**: 1899–1902.
475. Luna RA, Millecker LA, Webb CR et al (2013). Molecular epidemiological surveillance of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a pediatric population of patients with cystic fibrosis and determination of risk factors for infection with the Houston-1 strain. J Clin Microbiol; **51(4)**: 1237-1240.
476. Pier GB (2002). CFTR mutations and host susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. Curr Opin Microbiol; **5**: 81–86.
477. Kubesch P, Dork T, Wulbrand U et al (1993). Genetic determinants of airways' colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. Lancet; **341**: 189-193.
478. Abdul Wahab A, Taj-Aldeen SJ, Hagen F et al (2013). Genotypic diversity of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis siblings in Qatar using AFLP fingerprinting. Eur J Clin Microbiol Infect Dis; **195**: 1637-1644.
479. Albiger B, Dahlberg S, Henriques-Normark B et al (2007). Role of the innate immune system in host defence against bacterial infections: focus on the Toll like receptors. J Intern Med; **261**: 511-528.
480. Chalmers JD, Fleming GB, Hill AT et al (2010). Impact of mannose binding lectin (MBL) insufficiency on the course of cystic fibrosis: a review and metaanalysis. Glycobiology; **21**: 271-282.
481. Dorfman R, Sandford A, Taylor C et al (2008). Complex two-gene modulation of lung disease severity in children with cystic fibrosis. J Clin Invest; **118**: 1040.
482. Carlsson M, Sjöholm AG, Eriksson L et al (2005). Deficiency of the mannan-binding lectin pathway of complement and poor outcome in cystic fibrosis: bacterial colonization may be decisive for a relationship. Clin Exp Immunol; **139**: 306.
483. Garred P, Pressler T, Madsen HO et al (1999). Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. J Clin Invest; **104**: 431.
484. McDougal KE, Green DM, Vanscoy LL et al (2010). Use of a modeling framework to evaluate the effect of a modifier gene (MBL2) on variation in cystic fibrosis. Eur J Hum Genet; **18**: 680.

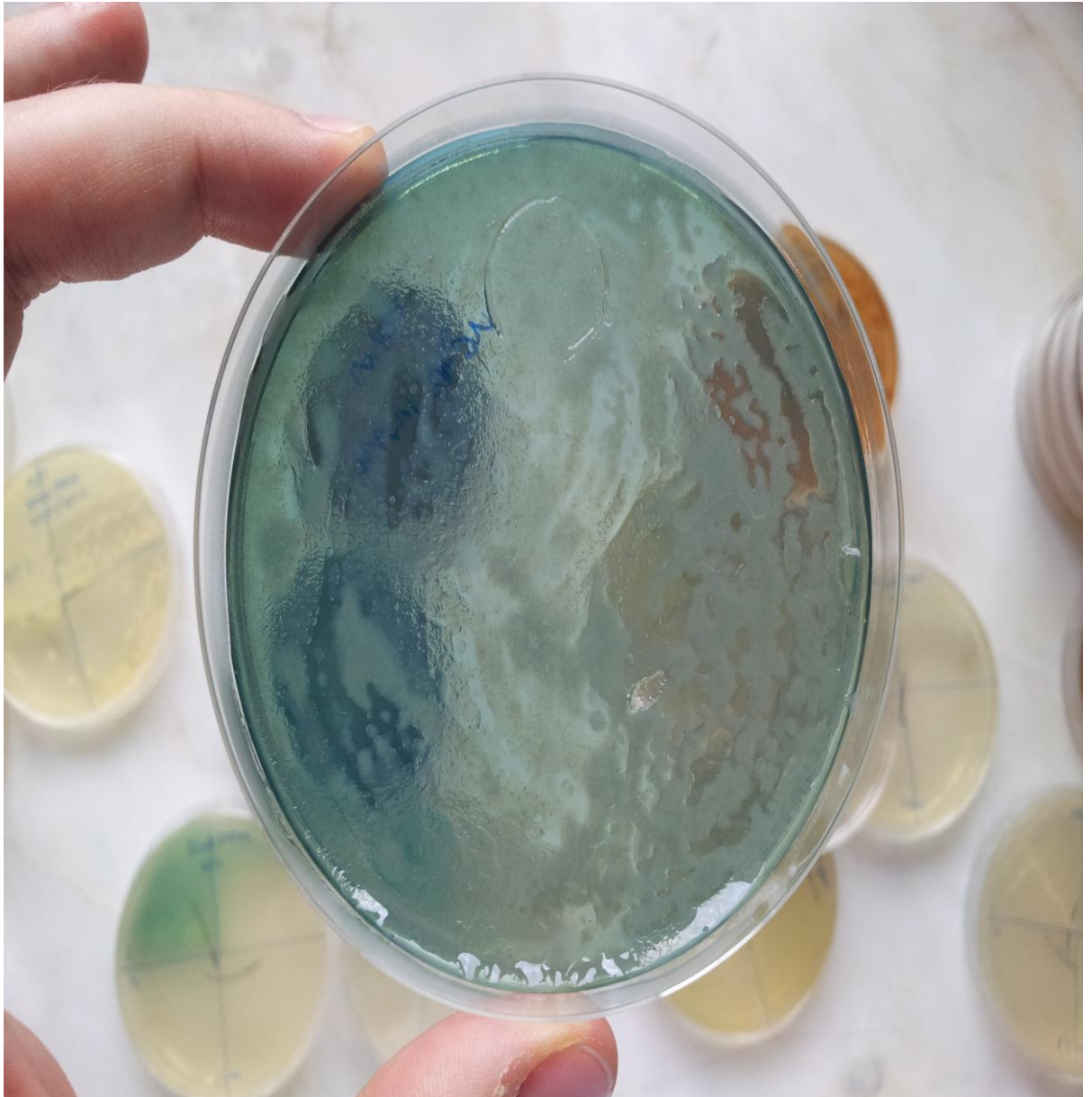
485. Olesen HV, Jensenius JC, Steffensen R et al (2006). The mannan-binding lectin pathway and lung disease in cystic fibrosis—dysfunction of mannan-binding lectin-associated serine protease 2 (MASP-2) may be a major modifier. *Clin Immunol*; **121**: 324.
486. Kilpatrick DC, Chalmers JD, MacDonald SL et al (2009). Stable bronchiectasis is associated with low serum L-ficolin concentrations. *Clin Respir J*; **3**: 29.
487. Garred P, Larsen F, Seyfarth J et al (2006). Mannose-binding lectin and its genetic variants. *Genes Immun*; **7**: 85.
488. Davies J, Neth O, Alton E et al (2000). Differential binding of mannose-binding lectin to respiratory pathogens in cystic fibrosis. *Lancet*; **355**: 1885.
489. Dorfman R, Taylor C, Lin F, Sun L, Sandford A, Pare P, et al. Modulatory effect of the SLC9A3 gene on susceptibility to infections and pulmonary function in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2011; **46**: 385.
490. Grasemann H, Storm van's Gravesande K, Buscher R et al (2003). Endothelial nitric oxide synthase variants in cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*; **167**: 390.
491. Dündar D, Tamer GS (2009). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnci: Üç yıllık değerlendirme. *ANKEM Dergi*; **23(1)**: 17-21.
492. Tomic V, Ursic V (2010). Typing of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients: comparison of genotype and antimicrobial susceptibility. *Zdrav Vestn*; **79**: 623-627.
493. Ojeniye B, Frederiksen B, Hoiby N (2000). *Pseudomonas aeruginosa* cross-infection among patients with cystic fibrosis during a winter camp. *Pediatr Pulmonol*; **29**: 177-181.
494. Greenberg D, Yagupsky P, Peled N et al (2004). Lack of evidence of transmission strain of *Pseudomonas aeruginosa* in adults with cystic fibrosis chronically colonised by *P aeruginosa*. *Lancet*; **358**: 558-560.
495. Grothues D, Koopmann U, von der Hardt, Tummler B (1988). Genome fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa* indicates colonization of cystic fibrosis siblings with closely related strains. *J Clin Microbiol*; **26**: 1973-1977.

496. Tummeler B, Koopmann U, Grothues D et al (1991). Nosocomial acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* by cystic fibrosis patients. J Clin Microbiol; **29**: 1265-1267.
497. Woltz C, Kiosz G, Ogle JW (1989). *Pseudomonas aeruginosa* cross-colonization and persistence in patients with cystic fibrosis. Use of a DNA probe. Epidemiol Infect; **102**: 205-214.

8. EKLER



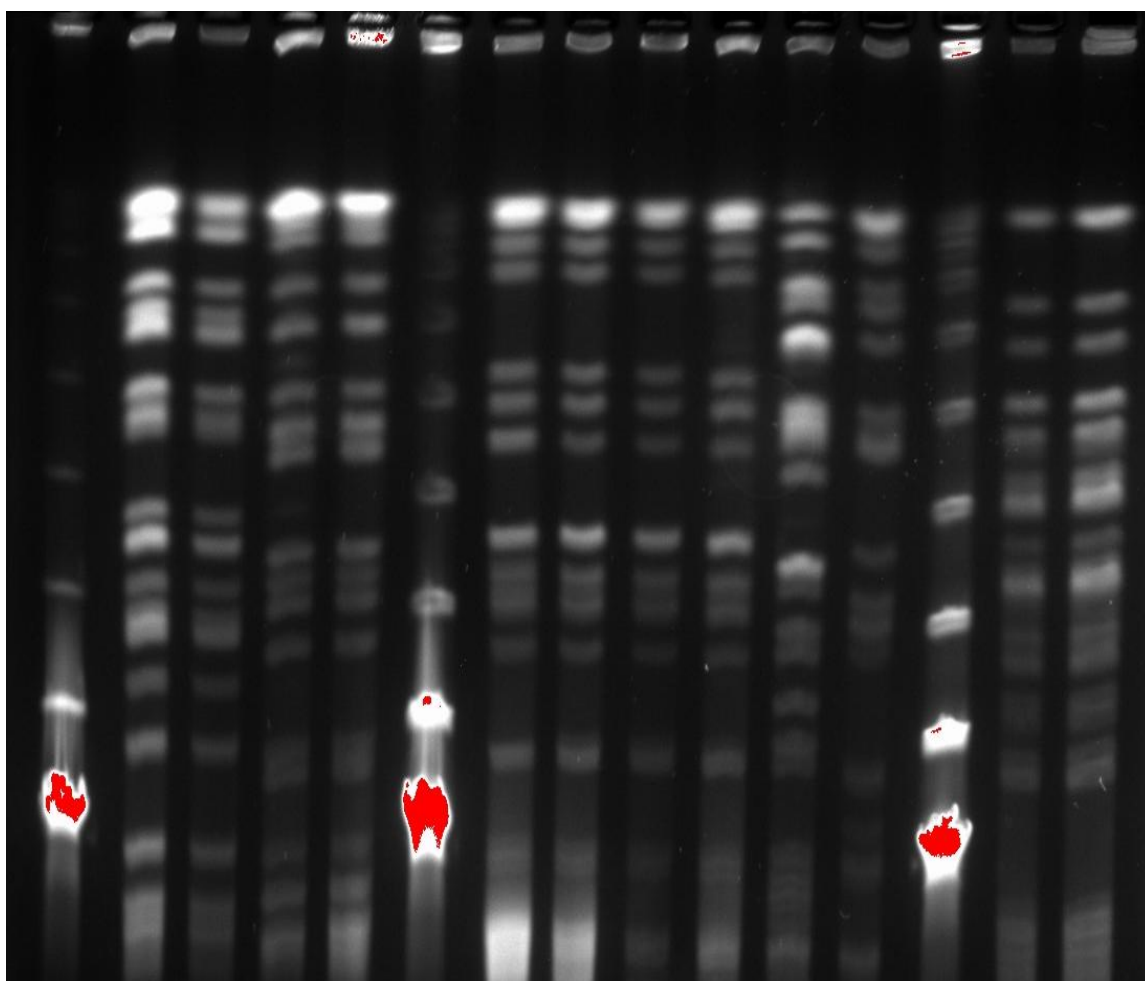


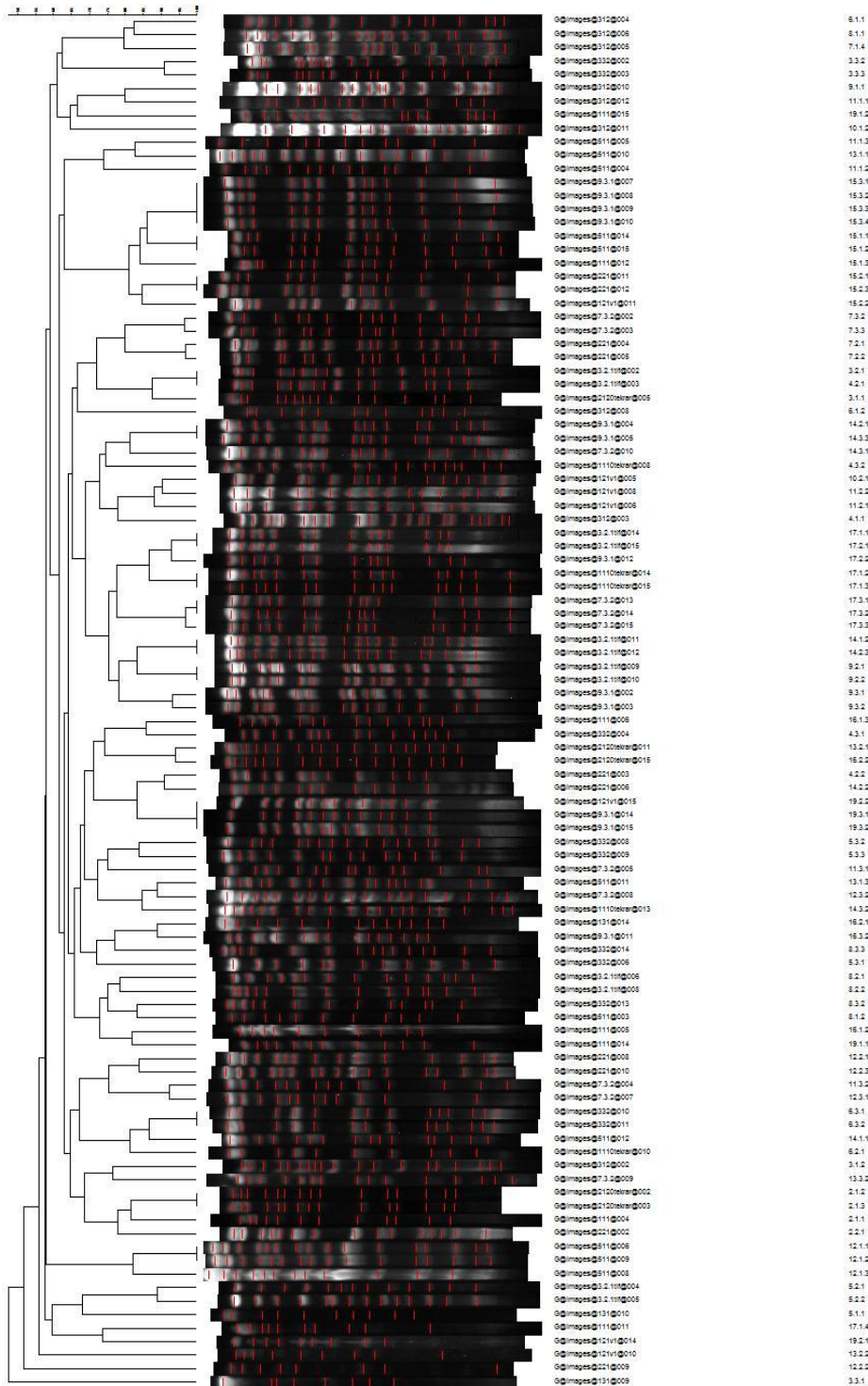


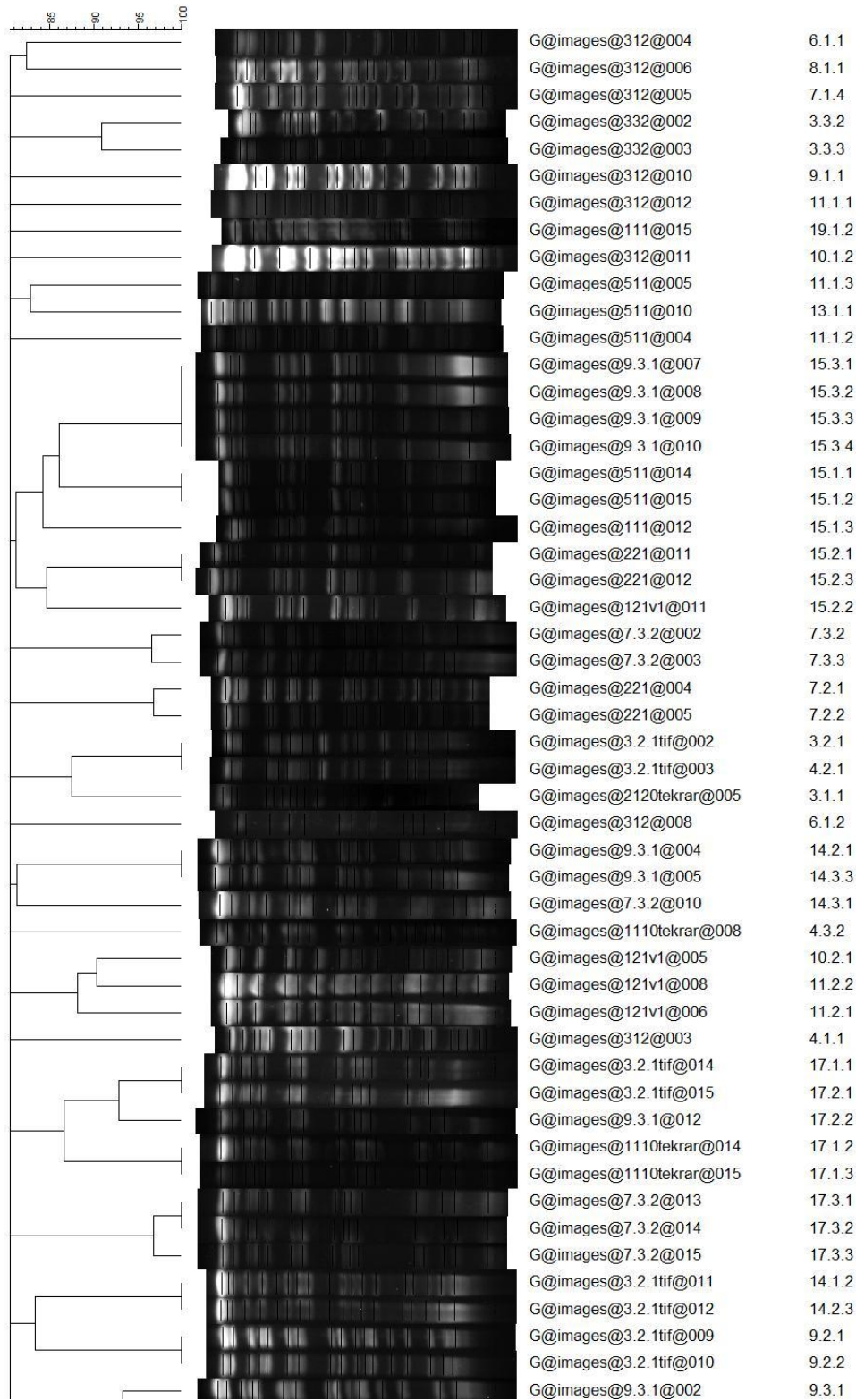












		G@images@3.2.tif@010	9.2.2
		G@images@9.3.1@002	9.3.1
		G@images@9.3.1@003	9.3.2
		G@images@111@006	16.1.3
		G@images@332@004	4.3.1
		G@images@2120tekrar@011	13.2.1
		G@images@2120tekrar@015	16.2.2
		G@images@221@003	4.2.2
		G@images@221@006	14.2.2
		G@images@121v1@015	19.2.2
		G@images@9.3.1@014	19.3.1
		G@images@9.3.1@015	19.3.2
		G@images@332@008	5.3.2
		G@images@332@009	5.3.3
		G@images@7.3.2@005	11.3.1
		G@images@511@011	13.1.3
		G@images@7.3.2@008	12.3.2
		G@images@1110tekrar@013	14.3.2
		G@images@131@014	16.2.1
		G@images@9.3.1@011	16.3.2
		G@images@332@014	8.3.3
		G@images@332@006	5.3.1
		G@images@3.2.tif@006	8.2.1
		G@images@3.2.tif@008	8.2.2
		G@images@332@013	8.3.2
		G@images@511@003	8.1.2
		G@images@111@005	16.1.2
		G@images@111@014	19.1.1
		G@images@221@008	12.2.1
		G@images@221@010	12.2.3
		G@images@7.3.2@004	11.3.2
		G@images@7.3.2@007	12.3.1
		G@images@332@010	6.3.1
		G@images@332@011	6.3.2
		G@images@511@012	14.1.1
		G@images@1110tekrar@010	6.2.1
		G@images@312@002	3.1.2
		G@images@7.3.2@009	13.3.2
		G@images@2120tekrar@002	2.1.2
		G@images@2120tekrar@003	2.1.3
		G@images@111@004	2.1.1
		G@images@221@002	2.2.1
		G@images@511@006	12.1.1
		G@images@511@009	12.1.2
		G@images@511@008	12.1.3
		G@images@3.2.tif@004	5.2.1
		G@images@3.2.tif@005	5.2.2
		G@images@131@010	5.1.1
		G@images@111@011	17.1.4
		G@images@121v1@014	19.2.1
		G@images@121v1@010	13.2.2
		G@images@221@009	12.2.2
		G@images@131@009	3.3.1

Tablo 67. Hastalardan İzole edilen Pa suşlarının Dönem, Fenotip, Genotip Dağılımı

Hasta no	Suş no	Dönem no	M/ N	P	Antibiyotik Fenotipi	Direnç	Fenotip	Genotip
1	1	1	N	-	1		1	-
1	2	1	N	+ (SY)	2		2	-
1	3	2	N	+	-		3	-
1	4	2	N	-	-		4	-
1	5	3	N	-	-		4	-
1	6	3	M	-	-		5	-
1	7	3	N	-	-		4	-
2	8	1	M	+	-		6	XXXVIII
2	9	1	N	+	2		7	XXXVIII
2	10	1	N	+	-		8	XXXVIII
2	11	2	M	+	-		9	XXXIX
3	12	1	N	-	-		4	XII
3	13	1	N	-	-		4	XXXVI
3	14	2	M	-	9		10	XII
3	15	3	N	+	-		12	XLVII
3	16	3	N	+	8		11	III
3	17	3	M	-	2		13	III
4	18	1	N	+	3		14	XVII
4	19	2	M	-	4		15	XII
4	20	2	N	-	-		4	XXIV
4	21	3	M	-	22		16	XXII
4	22	3	N	-	43		17	XV

5	23	1	M	-	25	18	XLII
5	24	2	M	-	46	19	XLI
5	25	2	N	-	42	20	XLI
5	26	3	N	-	37	21	XXX
5	27	3	M	-	26	22	XXV
5	28	3	N	+	53	23	XXV
6	29	1	N	+	-	12	I
6	30	1	N	-	40	24	XIII
6	31	2	M	-	5	25	XXIV
6	32	3	M	-	34	26	XXIV
6	33	3	N	-	9	27	XXIV
7	34	1	N	-	41	28	II
7	35	2	M	-	51	29	XLVIII
7	36	2	M	-	50	30	XLVIII
7	37	3	M	-	55	31	XI
7	38	3	N	-	54	32	XI
8	39	1	N	-	-	4	I
8	40	1	M	-	27	33	XXXIII
8	41	2	M	-	10	34	XXXI
8	42	2	M		17	35	XXXII
8	43	3	N	-	28	36	XXXIII
8	44	3	M	-	48	37	XXIX
9	45	1	N	-	-	4	IV
9	46	2	M	-	-	5	XX
9	47	2	N	-	-	4	XX
9	48	3	M	-	47	38	XXI

9	49	3	M	-	38	39	XXI
10	50	1	N	-	-	4	VII
10	51	2	N	-	-	4	XVI
11	52	1	M	-	18	40	V
11	53	1	M	+	29	41	IX
11	54	1	M	-	30	42	VIII
11	55	2	M	-	-	5	XVI
11	56	2	N	+	-	3	XVI
11	57	3	M	-	3	43	XXVI
11	58	3	N	-	39	73	XXXV
12	59	1	N	-	11	44	XL
12	60	1	M	-	11	45	XL
12	61	1	M	+	-	6	XL
12	62	2	M	-	19	46	XXXIV
12	63	2	M	-	6	47	XLVI
12	64	2	N	-	-	4	XXXIV
12	65	3	M	+	31	48	XXXV
12	66	3	M	+	6	49	XXVII
13	67	1	N	-	15	50	VIII
13	68	1	M	-	-	5	XXVII
13	69	2	M	-	52	51	XXIII
13	70	2	N	-	56	52	XLV
13	71	3	N	-	23	53	XXXVII
14	72	1	M	-	-	5	XXIV
14	73	1	N	-	-	4	XX
14	74	2	M	-	-	5	XIV

14	75	2	M	-	-	5	XXIV
14	76	2	N	-	20	54	XX
14	77	3	M	-	7	55	XIV
14	78	3	M	-	6	47	XXVII
14	79	3	N	-	32	56	XIV
15	80	1	N	+	21	57	X
15	81	1	M	-	12	58	X
15	82	1	M	-	-	5	X
15	83	2	M	-	5	25	X
15	84	2	M	-	-	5	X
15	85	2	N	+	31	59	X
15	86	3	N	-	44	60	X
15	87	3	N	-	35	61	X
15	88	3	M	-	49	62	X
16	89	1	M	-	13	63	XXII
16	90	1	M	-	3	43	XXII
16	91	2	N	-	3	64	XXVIII
16	92	2	M	-	3	43	XXIII
16	93	3	M	-	36	65	XXVIII
17	94	1	N	+	33	66	XVIII
17	95	1	M	-	-	5	XVIII
17	96	1	M	-	16	67	XVIII
17	97	1	N	+	33	68	XLIII
17	98	2	M	-	-	5	XVIII
17	99	2	N	-	14	69	XVIII
17	100	3	N	-	24	70	XIX

17	101	3	N	+	45	71	XIX
17	102	3	M	-	8	72	XIX
19	103	1	M	-	-	5	XXII
19	104	1	M	-	-	5	VI
19	105	1	M	-	-	5	XLIV
19	106	1	M	-	-	5	XXIV
19	107	1	M	-	-	5	XXIV

Tablo 68. Antibiyotik direnç fenotipleri

Antibiyotik Direnç Fenotip No	Dirençli/ Ortaduyarlı Olunan Antibiyotikler	Suş No	Suş Sayı (n)	Genotip No	Fenotip No
1	Of: D	1	1	-	
2	Of: O	2, 9, 17	3	III, XXXVIII	-, 13, 7
3	TS: O	18, 57*, 90*, 91, 92*	5	XVII, XXVI, XXII, XXVIII, XXIII	14, 43*, 64
4	S: D	19	1	XII	15
5	İpm: D	31*, 83*	2	XXIV, X	25*
6	G: O	63*, #66, #78*	3	XLVI, #XXVII (2)	47*, 49
7	A: O	77	1	XIV	55
8	P: O	16, 102	2	III, XIX	11, 72
9	Of: D, C: O	14, 33	2	XII, XXIV	10, 27
10	Mm: O, Of: O	41	1	XXXI	34
11	A: O, G: O	#59, 60	2	#XI	44, 45
12	A: D, G: O	81	1	X	58
13	AZT: O, TS: O	89	1	XXII	63
14	Of: D, TS: D	99	1	XVIII	69
15	S: D, TS: O	67	1	VIII	50
16	Of: D, TS: O	96	1	XVIII	67
17	N: O, PT: O, TS: D	42	1	XXXII	35
18	S: D, AZT: O, TS: D	52	1	V	40
19	A: D, G: O, T: O	62	1	XXXIV	46
20	A: D, N: O, G: D	76	1	XX	54
21	P: O, A: D, G: D	80	1	X	57
22	PT: O, AZT: O, TS: O	21	1	XXII	16
23	P: O, PT: O, TS: D	71	1	XXXVII	53
24	G: O, Of: D, TS: O	100	1	XIX	70
25	A: O, N: O, G: O, Of: D	23	1	XLII	18
26	S: O, A: D, G: D, T: D	27	1	XXV	22
27	A: D, N: O, G: O, TS: D	40	1	XXXIII	33
28	A: D, G: O, Of: O, C: O	43	1	XXXIII	36

29	S: D; Of: O, AZT: O, TS: O	53	1	IX	41
30	S: D, P: O, AZT: O, TS: O	54	1	VIII	41
31	A: D, N: D, G: D, T: O	65, 85	2	X, XXXV	48, 59
32	P: O, A: O, G: O, Of: O	79	1	XIV	56
33	A: D, N: D (IBL), G: D, T: D	94, 97	2	XVIII, XLIII	66, 68
34	Ipm: D, P: O, Of: O, PT: O	32	1	XXIV	26
35	Mm: D, Ipm: D, P: D, AZT: O	87	1	X	61
36	P: O, PT: O, AZT: O, TS: O	93	1	XXVIII	65
37	A: D, N: D, G: D, TS: D, T: D	26	1	XXX	21
38	A: D, N: D, G: D, Of: O, T: D	49	1	XXI	39
39	P: O, A: O, G: D, Of: D, C: O	58	1	XXXV	73
40	Mm: D, Ipm: O, S: O, P: D, Of: D, C: O	30	1	XIII	24
41	S: O, P: D, A: D, G: D, Of: O, TS: O	34	1	II	28
42	S: D, P: O, A: D, N: O, G: D, T: O	25	1	XLI	20
43	S: O, P: D, A: D, G: O, AZT: D, TS: D	22	1	XV	17
44	S: D, P: O, A: D, N: D, G: D, T: O	86	1	X	69
45	S: D, P: O, A: D, N: D, G: D, TS: O	101	1	XIX	71
46	S: O, P: O, A: D, N: D, G: D, TS: O, T: D	24	1	XLI	19
47	P: D, A: D, N: O, G: D, Of: O, TS: O, T: O	48	1	XXI	38
48	S: S, P: O, Of: D, C: O, PT: O, AZT: D, TS: D	44	1	XXIX	37
49	Mm: D, Ipm: D, P: D, A: O, G: D, Of: O, TS: O	88	1	X	62

50	Mm: D, İpm: D, A: D, N: D, G: D, Of: O, C: O, T: D	36	1	XLVIII	30
51	Mm: D, İpm: D, S: D, P: D, Of: D, C: D, PT: O, AZT: O, TS: D	35	1	XLVIII	29
52	Mm: O, İpm: D, S: D, P: O, A: O, Of: O, PT: O, AZT: D, TS: D	69	1	XXIII	51
53	S: D, P: D, A: D, N: D, G:D, Of: D, C: O, PT: O, TS: O, T: R	28	1	XXV	23
54	Mm: D, İpm: D, S: D, P: D, A: O, Of: D, PT: D, AZT: O, TS: D	38	1	XI	32
55	Mm: D, İpm: D, S: D, P: D, A: O, G: D, Of: D, C: D, PT: D, AZT: D, TS: D	37	1	XI	31
56	S: R, P: D, A: D, N: D, G: D, Of: D, C: O, PT: D, AZT: D, TS: D, T: D	70	1	XLV	52

***Aynı fenotipte ve aynı antibiyotik direnç fenotipinde suşlar, #Aynı antibiyotik direnç fenotipinde ve ayırt edilemez genotipte suşlar**

AÇIKLAMALAR

Dendrogram ağacında belirtilen tanımlamalar ve numaralar sırası ile; yürütülen jelin TIFF formatında görüntü adı, hasta numarası, dönem numarası, ve belirtilen dönemde izole edilen suş sırasını ifade etmektedirler.

Örn: G@images@312@004

611

Yürütülen Jelin TIFF görüntü adı **hasta no, dönem no, dönem içinde suş sıra no**