



**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
Pseudomonas aeruginosa SUŞLARININ
VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**2024
YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ**

Shenaz MLUDI

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Meryem ÇOLAK**

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
Pseudomonas aeruginosa SUŞLARININ
VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Shenaz MLUDI

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Meryem ÇOLAK**

**T.C.
Karabük Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında
Yüksek Lisans Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

**KARABÜK
Haziran 2024**

Shenaz MLUDI tarafından hazırlanan “KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *Pseudomonas aeruginosa* SUŞLARININ VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Meryem ÇOLAK

.....

Tez Danışmanı, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından Oy Birliği ile Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 13/06/2024

Ünvanı, Adı SOYADI (Kurumu)

İmzası

Başkan : Doç. Dr.Meryem ÇOLAK (KBÜ)

.....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Şerife YILMAZ (KBÜ)

.....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Nurnehir BALTACI BOZKURT (AFSÜ)

Online

KBÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu, bu tez ile, Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Doç. Dr. Zeynep ÖZCAN

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü



“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Shenaz MLUDI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *Pseudomonas aeruginosa* SUŞLARININ VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Shenaz MLUDI

Karabük Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Meryem ÇOLAK

Haziran 2024, 70 sayfa

Gram-negatif fırsatçı bir bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), özellikle immün sistemi zayıflamış hastaları etkilemekte ve insan vücudu, banyo lavaboları ve kişisel yaşam alanlarına ek olarak kateterler ve solunum ventilatörler gibi hastane ekipmanları dahil çok çeşitli ortamlarda bulunmaktadır. Geniş dağılımı, özellikle hastane ortamlarında kontaminasyonun kontrol edilmesini ve önlenmesini zorlaştırmakta, çoklu ilaç direnci ve içerdiği virülans faktörleriyle konakçıya bağlanmayı, konak immün sisteminden kaçmayı ve antibiyotiklere karşı direnci kolaylaştırarak infeksiyon seyrini arttırabilmektedir. Bu çalışma T.C. Sağlık Bakanlığı Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerde tespit edilen *P. aeruginosa* suşlarındaki virülans faktörlerinin araştırılması amacıyla yapılmıştır. Kasım 2023 ile Mart 2024 tarihleri arasında çeşitli klinik örnekler *P. aeruginosa* pozitifliği yönünden taranarak pozitif saptanan 100 örnek çalışmamıza dahil edilmiş olup; elastaz, proteaz, hareketlilik, piyoverdin,

piyosiyanin, hemoliz, seğirme (twitching) hareketliliği, mukoid fenotip, katalaz ve lipaz özellikleri değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz verilere göre, klinik örneklerin dağılımını %31 idrar, %30 ETA, %20 apse, %9 balgam, %5 kan, %3 BAL ve %2 kulak örneği oluşturmaktadır. Virülans faktörlerinin pozitiflik oranları ise elastaz %76, proteaz %56, motilite %92, pyoverdin %86, piyosiyanin %60, hemoliz %87, seğirme motilitesi %82, lipaz için %58, mukoid fenotip %79 ve katalaz için %100 tespit edilmiştir. *P. aeruginosa*'nın hastane infeksiyonlarının önemli bir nedeni olduğu göz önüne alındığında, izolatların virülans özelliklerinin anlaşılması, kolonizasyonun önlenmesi ve yeni tedavi seçeneklerinin araştırılmasında yol göstereceği öngörülmektedir.

Anahtar Sözcükler : *Pseudomonas aeruginosa*, virülans faktörleri, patogeneze

Bilim Kodu : 1039.09

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF VIRULENCE FACTORS OF *Pseudomonas aeruginosa* STRAINS ISOLATED FROM CLINICAL SAMPLES.

Shenaz MLUDI

Karabük University

Institute of Graduate Programs

Department of Medical Microbiology

Thesis Advisor:

Assoc. Prof. Dr. Meryem ÇOLAK

June 2024, 70 pages

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*), a Gram-negative opportunistic bacterium, particularly affects patients with weakened immune systems and is found in a wide variety of environments, including the human body, bathroom sinks, and personal living spaces, as well as hospital equipment such as catheters and respiratory ventilators. Its wide distribution makes it difficult to control and prevent contamination, especially in hospital environments, and poses a significant morbidity and mortality risk due to the difficulty of treatment. In addition, it exhibits multidrug resistance and can increase the course of infection by facilitating attachment to the host, evasion of the host immune system, and resistance to antibiotics with its virulence factors. Virulence factors, which include a series of secreted toxins, enzymes, and structural components specific to bacteria, attract attention in terms of diagnosis, treatment, control, and management policies. In this context, our study aimed to evaluate virulence factors in patients in whom *P. aeruginosa* growth was detected in

clinical samples sent to the Microbiology Laboratory of the Karabük Education and Research Hospital of the Ministry of Health of the Republic of Turkey. Between November 2023 and March 2024, 100 samples from patients aged 0-100 years who were screened for *P. aeruginosa* positivity in urine, ear, endotracheal aspirate (ETA), blood, sputum, wound abscess and bronchoalveolar lavage (BAL) samples were included in our study and elastase, protease, motility, pyoverdin, pyocyanin, hemolysis, twitching motility, mucoid phenotype, catalase and lipase properties were evaluated. According to the data we obtained, the distribution of clinical samples consisted of 31% urine, 30% ETA, 20% abscess, 9% sputum, 5% blood, 3% BAL and 2% ear samples. The positivity rates of virulence factors were determined as 76% for elastase, 56% for protease, 92% for motility, 86% for pyoverdin, 60% for pyocyanin, 87% for hemolysis, 82% for twitching motility, 58% for lipase, 79% for mucoid phenotype and 100% for catalase. Considering that *P. aeruginosa* is an important cause of hospital infections, it is anticipated that understanding the virulence properties of isolates will guide the prevention of colonization and the investigation of new treatment options.

Key Word : *Pseudomonas aeruginosa*, virulence factors, pathogenesis

Science Code : 1039.09

TEŞEKKÜR

Danışman hocam sayın Doç. Dr. Meryem ÇOLAK'a bu tez çalışmasının planlanması, araştırılması ve yürütülmesinde gösterdiği rehberlik, destek ve yardımlarından dolayı tüm kalbimle teşekkür ederim.

Sevgili annem Marriam ve babam Shybu en derin teşekkürlerimi sunmak isterim. Sarsılmaz desteğiniz, teşvikiniz ve sevginiz akademik yolculuğumun temeli oldu. Fedakarlıklarınız ve bana olan inancınız sürekli ilham kaynağımdı ve siz olmasaydınız bu başarı mümkün olamazdı.

Motivasyonları ve bana olan inançları için kardeşlerime, Ibraheem, Zaheer ve Imtiaz'a teşekkür ederim.

Bu süreçte yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Esra Taş, İzal Acar, Aseel Almadhoun ve Nqobile Mzulwini de çok teşekkür ediyorum.

Bu tez çalışması Karabük Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından desteklenmiştir (KBÜBAP-23-YL-081).

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
SİMGELER	xiv
KISALTMALAR	xiv
 BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
 BÖLÜM 2	3
GENEL BİLGİLERİ	3
2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
2.2. MORFOLOJİ VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLER.....	4
2.3. EPİDEMİYOLOJİ.....	5
2.4. PATOGENEZ	6
2.5. VİRÜLANS FAKTÖRLERİ.....	8
2.5.1 Membranla İlgili Faktörler	10
2.5.2. Salgılanan Faktörler.....	14
2.5.3. Bakteriyel Hücreden Hücreye Etkileşim	17
2.6. LABORATUVAR TANISI.....	19
2.7. KLİNİK BULGULAR	20
2.7.1. Solunum Yolu İnfeksiyonları	21
2.7.2. Deri ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları.....	21

	<u>Sayfa</u>
2.7.3. İdrar Yolu İnfeksiyonları	22
2.7.4. Bakteriyemi ve Endokardit	22
2.7.5. Merkezi Sinir Sistemi İnfeksiyonları.....	22
2.7.6. Göz İnfeksiyonları	23
2.7.7. Kulak İnfeksiyonları	23
2.8. <i>P. aeruginosa</i> İNFEKSİYONLARININ TEDAVİSİ.....	23
2.9. ANTİBİYOTİK DİRENCİ.....	24
2.9.1. Doğal (İntrinsik) Direnç	24
2.9.2. Kazanılmış Direnç	25
2.9.3. Adaptif Direnç	26
BÖLÜM 3	27
MATERYAL VE METOD	27
3.1. ARAŞTIRMANIN YAPILDIĞI YER VE TARİHİ	27
3.2. ARAŞTIRMA EVREN VE ÖRNEKLEMİ	27
3.3. ARAŞTIRMA İZİNLERİ.....	27
3.4. VERİLERİN TOPLANMASI	28
3.4.1. Klinik Örnekler	28
3.4.2. Laboratuvar Verileri	28
3.4.3. Demografik ve Klinik Veriler.....	28
3.5. LABORATUVAR ANALİZLERİ	29
3.5.1. Çalışmada Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması.....	29
3.5.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasalların Hazırlanması.....	32
3.5.3. Virülans Faktörlerinin Analizi.....	32
3.6. İSTATİKSEL ANALİZ	35
BÖLÜM 4	36
BULGULAR	36
BÖLÜM 5	46
TARTIŞMA	46

	<u>Sayfa</u>
BÖLÜM 6	54
SONUÇ	54
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	70



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2. 1. <i>P. aeruginosa</i> 'nın salgı sistemleri	12
Şekil 3. 1. Cam petri kabında Tributyrin agar.....	31
Şekil 3. 2. Otoklav sonrası (solda) ve petri kutularında <i>Pseudomonas</i> agar (sağda)..	31
Şekil 3. 3. Spektrofotometrede ölçüm işlemlerinin yapılması	33
Şekil 4. 1. Elastaz aktivitesinin spektrofotometre sonuçlarını görüntüsü.....	39
Şekil 4. 2. Alkalın proteaz aktivitesi pozitif sonucu görüntüsü.	40
Şekil 4. 3. Beta hemoliz pozitif sonucu.....	40
Şekil 4. 4. Hareket için pozitif sonuçları.....	41
Şekil 4. 5. Mukoid fenotip pozitiflik sonucu	41
Şekil 4. 6. Piyosiyenin pozitif sonucu.....	42
Şekil 4. 7. UV ışıkları altında piyoverdine pozitif sonuçlar.....	42
Şekil 4. 8. Lipaz pozitif sonucu.....	43
Şekil 4. 9. Seğirme hareket pozitif sonucu.....	44
Şekil 4. 10. Katalaz pozitif sonucu.....	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2. 1. Klinik olarak önemli <i>Pseudomonas</i> 'ların sınıflandırılması	3
Çizelge 2. 2. <i>P. aeruginosa</i> 'nın virülans faktörleri	9
Çizelge 4. 1. İzole edilen <i>P. aeruginosa</i> suşlarının klinik örneklerle göre dağılımı....	36
Çizelge 4. 2. Çalışmaya dahil edilen örneklerin cinsiyetlere göre dağılımı.....	37
Çizelge 4. 3. Çalışmaya dahil edilen örneklerin yaş gruplarının dağılımı.	37
Çizelge 4. 4. Çalışmaya dahil edilen örneklerin geldiği klinik birimlerin dağılımı. ...	38
Çizelge 4. 5. <i>P. aeruginosa</i> suşlarının izole edildikleri bölgelere göre sahip oldukları virülans faktörlerinin dağılımı	45

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C : Santigrat
µl : Mikrolitre
µm : Mikrometre
Fe³⁺ : Demir Iyonu
g : Gram
H₂S : Hidrojen Sülfid
kDa : Kilodalton
mg : Miligram
ml : Mililitre
mM : Milimol
nm : Nanometre

KISALTMALAR

AIDS : Acquired Immune Deficiency Syndrome
DNA : Deoxyribonucleic Acid (Deoksiribonükleik Asit)
rRNA : Ribosomal Ribonucleic Acid (Ribozomal Ribonükleik Asit)
LPS : Lipopolisakkaritler
Est A : Esteraz
ATP : Adenozin Trifosfat
RPM : Revolutions Per Minute (Dakikadaki devir sayısı)

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonadaceae familyasına ait aerobik, hareketli, fermente etmeyen, oksidaz pozitif, gram negatif bir bakteridir [1]. Bakteri çevrede yaygındır ve sıklıkla toprakta, suda, bitkilerde ve normal insan florasında bulunur [2]. Sağlıklı bireylerin normal florasında, *P. aeruginosa* yaygın olarak gastrointestinal sistem, boğaz, burun mukozası ve koltuk altı ve perine bölgesi dahil olmak üzere nemli cilt yüzeylerinde kolonize olmakla birlikte özellikle konak savunmasının bozulduğu durumlarda çeşitli virülans faktörlerinin etkisi altında ciddi infeksiyonlara neden olma potansiyelindedir. Çeşitli virülans faktörleri ile endokardit, dermatit, osteokondrit, idrar yolu infeksiyonu, akut ve kronik akciğer infeksiyonları gibi klinik tablolarla neden olabilmektedir [3]. *P. aeruginosa*, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda hastane kaynaklı infeksiyonlara neden olan başlıca patojenlerden biridir ve dünya çapındaki hastane infeksiyonlarının %15'inden sorumludur [4].

Yüksek prevalansı, ilaç direnci ve bakteriyel virülansı ile bilinen, hayatı tehdit eden “ESKAPE bakterileri”nin (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri) bir üyesi olarak *P. aeruginosa*, Dünya Sağlık Örgütü tarafından yeni antibiyotik adayı olarak tanımlanmış ve kritik olarak ihtiyaç duyulan, antibiyotiğe dirençli “öncelikli patojen” olarak listelenmiştir [5,6]. İnfeksiyonları yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahiptir ve bu durum, bakterinin çevresel değişikliklere kolayca uyum sağlama yeteneği, antibiyotiklere karşı hızlı direnç gelişimi ve çeşitli virülans faktörlerinin üretimiyle ilişkilidir [7].

P. aeruginosa, hem hücreyle ilişkili (flagella, pili, aljinat, lipopolisakkarit) hem de hücre dışı (proteazlar, hemolizinler, sitotoksin, piyosiyenin, sideroforlar, ekzotoksin A, ekzoenzim S, ekzoenzim U) virülans faktörlerinden oluşan bir çeşitliliğe sahiptir.

Virölans faktörleri, konakçıyı enfekte etme ve konakçının bakteriyel tutunmasına, kolonileşmesine ve istilasına, konak doku entegrasyonunun kesintiye uğramasına yol açan faktörleri aracılığıyla klinik semptomlara neden olma potansiyelini artırır ve konakçının bağışıklık tepkisinden bir kaçış stratejisi sunar [8]. *P. aeruginosa* virölans faktörlerinin üretimi, Quorum Sensing (QS) olarak adlandırılan bir hücre yoğunluğu izleme mekanizması tarafından koordine edilir [9].

Zaman içerisinde, çok ilaca dirençli *P. aeruginosa* infeksiyonları, farklı hastane birimlerinde endemiden epidemiyeye yayılmaktadır. Bu nedenle *P. aeruginosa*'nın tanısı, virölans faktörleri ve antibiyotik direnci ile ilgili çalışmalar önem kazanmıştır. Bu tez çalışmasında, T.C. Sağlık Bakanlığı Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerde saptanan *P. aeruginosa* suşlarının virölans faktörlerinin değerlendirilmesi ve elde edilen bulgularla epidemiyolojik verilere ve yeni tedavi seçeneklerinin araştırılmasına katkı sunulması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLERİ

2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa, Pseudomonadaceae familyası ve Pseudomonas cinsinde yer alan gram negatif bir bakteridir [10]. *P. aeruginosa*'yı ilk kez 1882 yılında Carle Gessard, Fransız askerlerinin yara infeksiyonlarından keşfetmiş ve ona *Bacillus pyocyaneus* adını vermiştir [11]. *Pseudomonas* cinsinde yer alan bu bakteriler daha sonra 1894 yılında Migula ve ark., tarafından tanımlanmış olup, günümüzde rRNA homoloji sonuçlarına göre beş grupta incelenmektedir (Çizelge 2.1). *P. aeruginosa* homoloji grubu I'de yer almaktadır. *Pseudomonas*lar arasında en önemli insan patojeni *P. aeruginosa*'dır [12].

Çizelge 2. 1. Klinik olarak önemli *Pseudomonas*'ların sınıflandırılması [12].

rRNA Homoloji Grubu ve Alt Grubu	Cins ve Tür
Fluoresan Grubu	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas putida</i>
Non Fluoresan Grubu	<i>Pseudomonas stutzeri</i> <i>Pseudomonas mendocina</i>
II	<i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Burkholderia mallei</i> <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Ralstonia pickettii</i>
III	<i>Comamonas türleri</i> <i>Acidovorax türleri</i> <i>Delftia türleri</i> <i>Hydrogenophaga türleri</i>
IV	<i>Brevundimonas türleri</i>
Grup V	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Xanthomonas türleri</i>

Pseudomonas'lar, *Enterobacteriaceae* üyelerine benzeyen gram-negatif çubuklardır ancak aerob olmaları bakımından farklılık gösterirler, enerjilerini fermentasyon yerine yalnızca şekerlerin oksidasyonundan elde ederler. Glikozu fermente etmedikleri için, glikozu fermente eden *Enterobacteriaceae* üyelerinin aksine, fermente etmeyenler olarak adlandırılırlar [13]. *Pseudomonas*'lar toprakta, suda, bitkilerde ve hayvanlarda, çürüyen organik maddelerde, bitki örtüsünde ve suda yaygın olarak bulunur. Hastane ortamında yiyecekler, lavabolar, tuvaletler, yer paspasları, solunum terapisi ve diyaliz ekipmanları ve hatta dezenfektan solüsyonları gibi nemli rezervuarlarda da bulunurlar. Hastanede yatan hastalar ve bağışıklığı baskılanmış konakçılar dışında, normal mikrobiyal floranın bir parçası olarak insanlarda taşımının devam etmesi nadir görülen bir durumdur [2,12].

Diğer *Pseudomonas*larla karşılaştırıldığında *P. aeruginosa* en önemli türdür [2]. İnsanlarda, özellikle de bağışıklık sistemi zayıflamış ve kistik fibrozis hastalarında çeşitli infeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojen olarak bilinir [12]. *Pseudomonas* infeksiyonları hastanede yatan hastalarda önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir ve toplumdan edinilen infeksiyonların bir nedeni olarak giderek daha önemli hale gelmektedir [14].

2.2. MORFOLOJİ VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLER

P. aeruginosa, gram negatif, fermentatif olmayan bir basildir [10]. 1,5-3 µm uzunluğunda, 0,5-0,8 µm genişliğinde, düz veya hafif kıvrımlıdır ve spor içermez. Hücrenin dış yüzeyinde kapsül benzeri bir glikokaliks tabakası bulunur. Bu tabakanın poliürenik asitlerden, özellikle D-mannuronik ve L-glukuronik asitlerden oluşan aljinik asit yapısına sahip polisakkaritlerden oluştuğu belirlenmiştir [15]. Genellikle tek veya çok kutuplu flagella ile hareketlidir. *P. aeruginosa*, 468 düzenleyici gen dahil 5567 geni kodlayan en büyük genomlardan birine sahiptir. Bu, bakterinin yüksek düzeyde uyum sağlamasına ve geniş bir çevre yelpazesinde ve ayrıca antimikrobiyallerin varlığında hayatta kalmasına yardımcı olur [2].

Zorunlu aerob olup *P. aeruginosa*'nın optimal üreme sıcaklığı 37°C'dir. Kanlı agarda beta hemolize neden olur ve Eosin Metilen Mavisli agar (EMB), McConkey agar gibi

laktoz içeren besiyerlerinde laktoz negatif koloniler oluşturur. Agarın genellikle kendine özgü bir kokusu vardır. Özel koku *P. aeruginosa*'ya özgüdür, tatlı aromatik meyve, tatlı üzüm veya trimetilamin kokusuna benzer. Bazı suşlar besiyerinde mavi-yeşil piyosiyanın, yeşil-sarı piyoverdin ve kırmızı-kahverengi piyorubin pigmentleri üretir. Klinik infeksiyonlardan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında piyosiyanın pigmentine sıklıkla rastlanmakta olup, bu pigmentten dolayı “aeruginosa” ismi verilmiştir [10,16].

P. aeruginosa karbonhidratları fermente etmez. Glikoz ve ksiloz gibi şekerler üzerinde oksidatif etki gösterirken, maltoz, laktoz ve sakkaroz üzerinde etkisizdirler. *Enterobacteriaceae*'den oksidaz pozitif olmaları nedeniyle farklılık gösterirler. İndol ve H₂S üretmez. Metil kırmızısı ve Voges-Proskauer test negatiftir. Nitratları nitritlere dönüştüren potasyum siyanüre karşı dayanıklıdır. Katalaz ve L-arginin dihidrolaz oluştururlar ancak lizin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilaz oluşturmazlar [17].

P. aeruginosa antibiyotiklere direnç geliştirmede oldukça başarılıdır [18]. Bazı virülans faktörleri antibiyotik direncine yardımcı olur, örneğin dış membran yapılarında bulunan lipopolisakkaritler doğal bir bariyer oluşturarak antibiyotiklerin geçişini engeller ve biyofilm oluşumu antibiyotiklerden koruma sağlar. Doğal ortamda basil, aktinomiçes ve mantarlarla bir arada bulunması, doğal antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesini sağlar. Antibiyotik direnç plazmitleri içerir ve bunları transdüksiyon ve konjugasyon yoluyla aktarır [19]. Florokinolonlar, bazı aminoglikozidler ve imipenem gibi sınırlı sayıda antibiyotiğe duyarlı olmasına rağmen, giderek artan bir direnç sorunu vardır ve bu duyarlılık suşlar arasında değişmektedir [20].

2.3. EPİDEMİYOLOJİ

P. aeruginosa çevrede hemen hemen her yerde bulunur. Bu nedenle temas ve bulaş yolları daha kolaydır, dış ortam şartlarına karşı dirençlidir. Bakterinin tuvalet, musluk başlıkları, temizlik aletleri, endoskopi ve kolonoskopi gibi cansız nesneler üzerinde bulunduğu tespit edilmiştir [21]. Solunum cihazları, temizlik solüsyonları, ilaçlar, dezenfektanlar ve paspaslar ikamet yerleridir. Yüzme havuzları, jakuziler, saunalar ve

kontakt lens solüsyonları gibi hastane dışındaki suyla ilgili kaynaklardan da kontaminasyon meydana gelebilir [22].

P. aeruginosa insanların normal florasında bulunabilir [23]. Derinin %0.2'sinde, burun mukozasının %0-3,3'ünde, boğazın %0-6.6'sında, dışkının %2.6-24'ünde görülebilmektedir. Hastane infeksiyonlarında önemi giderek artmakta, hastanede yatan yanık hastalarının cildinde, solunum cihazı kullanan hastaların alt solunum yollarında, kemoterapi alan hastaların mide-bağırsak sisteminde ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanan hastalarda %50 oranında etken olarak tanımlanabilmektedir [24].

P. aeruginosa vücudun hemen hemen her yerinde infeksiyona neden olabilir, ancak sağlıklı bir konakçıda tipik olarak infeksiyona neden olmaz. *P. aeruginosa* infeksiyonlarına en duyarlı kişiler, mukoza zarları veya derileri infeksiyona karşı fiziksel bir bariyer oluşturamayacak kadar zarar görmüş kişilerdir (örneğin yanık hastaları). Nötropenik veya başka bir şekilde bağışıklık yetersizliği olan hastalar, *P. aeruginosa*'nın da aralarında bulunduğu birçok farklı organizma ile infeksiyona yatkın hale gelir. Kistik fibrozlu hastalarda oluşan benzersiz akciğer ortamı, organizmanın mikro kolonilerini çevreleyen aljinat üretimi nedeniyle organizmanın karakteristik bir mukoid fenotip sergilediği *P. aeruginosa* ile kronik bir infeksiyonu teşvik eder [25].

P. aeruginosa, hastane kaynaklı infeksiyonlarda izole edilen dördüncü en yaygın nozokomiyal patojendir. Hastanede yatan kardiyovasküler hastalığı, kanseri veya diyabeti olan hastaların ve özellikle mekanik solunum cihazı kullanan hastaların *P. aeruginosa*'ya bağlı olarak pnömoni veya bakteriyemi kapma olasılıkları yüksektir [25]. Hastanede yatan hastalarda *P. aeruginosa* infeksiyonları, hastanede kalış süresinin uzamasına ve maliyetlerin artmasına, ayrıca önemli morbidite ve mortaliteye neden olur [26].

2.4. PATOGENEZ

Doğada yaygın olarak bulunmasına rağmen sağlıklı bireylerde nadiren hastalığa neden olan fırsatçı bir patojendir. Deri ve mukoza bütünlüğünün bozulması, intravasküler kateter veya endotrakeal tüp varlığı, nötropeni, hipogammaglobulinemi ve kompleman

eksikliği gibi durumlar *P. aeruginosa* infeksiyonlarına zemin hazırlayan faktörler olarak görülmektedir. *P. aeruginosa* hem istilacı hem de toksinojeniktir [10].

P. aeruginosa infeksiyonunun patogenezi bakteriyel kolonizasyon, invazyon ve sistemik yayılım olmak üzere 3 aşamada gerçekleşir [27]. İnfeksiyonun başlayabilmesi için öncelikle bakterinin yüzeye tutunması gerekir [28]. Deri ve mukozalarda, travma, ciddi yanıklar, cilt bütünlüğünün bozulması, normal floranın değişmesi, şeker hastalığı, kistik fibrozis, AIDS gibi bağışıklık sisteminin hasar gördüğü durumlarda ilk savunma mekanizmalarının yetersiz kalması nedeniyle bakterilerin tutunması kolaylaşır [29]. Fimbrialar ve adezyon molekülleri adezyonda rol oynar [30].

Epitel yüzeyine yapışarak kolonize olan *P. aeruginosa*'nın salgıladığı hücre dışı enzimler ve toksinler, doğal bariyerlerden geçebilmek için doku istilasında önemli rol oynar. Bu sayede fizyolojik bariyerleri bozar, hücre yıkımı yoluyla konakçıya zarar verir ve organ fonksiyonlarını bozar. *P. aeruginosa* farklı hücre dışı ürünleri sentezleyip hücre dışına salgılayarak ilk aşamada kolonize olan bakterilerin doku hasarına ve yayılmasına katkıda bulunur. Histolojik olarak *Pseudomonas* infeksiyonlarında yaygın doku nekrozu, mikro abse oluşumları, damar yapılarında bozulma ve kanamalar görülür [31].

Epitel bariyerlerinin yapışması, kolonizasyonu ve istilasını sonrasında bakteriler ve ürettikleri toksinler sistemik dolaşıma geçer ve yaygın sistemik infeksiyon semptomları ortaya çıkar. *P. aeruginosa* fagositoza ve kan dolaşımındaki diğer sistemik bakterisidal savunma mekanizmalarına karşı dirençlidir. Mukoid kapsül bu dirençte önemli bir rol oynar. Sentezlediği proteazlar kompleman sistemini etkisiz hale getirir, immünoglobulin G (IgG) antikorlarını parçalar ve interferon (IFN) ve tümör nekroz faktörü (TNF) gibi sitokinleri nötralize eder. *Pseudomonas* lipopolisakkarit yapısındaki Lipid A molekülleri (endotoksin), klasik gram-negatif septisemide görülen ateş, hipotansiyon ve intravasküler pıhtılaşma gibi olaylar zincirini tetikler [32].

P. aeruginosa tarafından üretilen iki hücre dışı toksin, ekzoenzim S ve ekzotoksin A, sistemik infeksiyonda rol oynar. Ekzotoksin A'nın neden olduğu hücre ölümü ve doku hasarı ile sistemik semptomlar ortaya çıkarken, aynı zamanda bakterilerin gelişip

çoğalması için de uygun bir ortam oluşturur. Ekzotoksin A'nın lokal doku hasarında ve bakteri istilasında rolü vardır. Ekzotoksin S'nin hücreler üzerinde sitopatik etkisi vardır. Bu toksini salgılamayan suşlar, yanıklarda ve kronik akciğer infeksiyonlarında daha az öldürücüdür [33].

2.5. VIRÜLANS FAKTÖRLERİ

Virülans, mikroorganizmaların konak hücreye zarar ve hastalık oluşturabilecek patojenite derecesini ifade etmektedir [34]. Patojenlerin virülansı, konakçıyı enfekte etme, bakteri tutunmasına ve kolonizasyonuna katkıda bulunan çeşitli faktörler yoluyla klinik semptomları tetikleme yeteneklerini içerir. Konakçının istilası ve doku bütünlüğünün bozulması, konakçının bağışık yanıtının bastırılması ve bağışık yanıttan kaçılması ve konakçının besin maddelerinin tükenmesi gibi olaylardan sorumlu olan mikrobiyal faktörlere virülans faktörleri denir [35,36]. Patojenik mikroorganizmalar, konakçı savunmasından kaçmaya, konakçı hücrelere girmeye ve konakçı hücreleri hareketsizleştirmeye veya yok etmeye yardımcı olan çeşitli farklı virülans faktörlerine sahiptir [34].

P. aeruginosa'nın virülans faktörleri üç ana gruba ayrılmıştır (Çizelge 2.2):

- Membranla İlgili Faktörler

Tip 4 pili, Flagella, Lipopolisakkarit, Aljinat

- Salgılanan faktörler

Piyoverdin, Piyochelin, Alkali proteaz, Elastaz A ve B, T3SS efektörleri, Ekzotoksin A, Lipaz A, Piyosiyanin

- Bakteriyel hücreden hücreye etkileşim

Biyofilm, Quorum-sensing

Çizelge 2. 2. *P. aeruginosa*'nın virülans faktörleri [8].

Kategoriler	Virülans faktörleri	İşlevler
Membranla İlgili Faktörler	Tip 4 pili	Konakçı hücrelere bağlanma, seğirme hareketliliği ve biyofilm oluşumu.
	Flagella	Hareketlilik, biyofilm oluşumu ve bakteriyel yapışma,
	Lipopolisakkarit	Konakçının inflamatuvar yanıtının uyarılması ve fagositoz.
	Aljinat	Biyofilm oluşumu, İmmün kaçış ve bakteriyel yapışma.
Salgılanan faktörler	Piyoverdin	Şelatlayıcı demirler, bakteri büyümesini teşvik eder ve bakteriyel virülansa katkıda bulunur.
	Piyochelin	Şelatlayıcı demirler, bakteri büyümesini teşvik eder ve bakteriyel virülansa katkıda bulunur.
	Alkali proteaz	Çekirdek algılamanın düzenlenmesi ve bakterilerin konakçı savunmasından korunması.
	Elastaz A ve B	Konakçı dokulardaki proteinleri parçalayarak doku hasarına neden olur.
	T3SS efektörleri	Konakçı aktin hücre iskeletinin bozulması ve konakçı hücre apoptozunun indüksiyonu.
	Ekzotoksin A	Hücre ölümüyle sonuçlanan protein sentezinin inhibisyonu.
	Lipaz A	Konak dokuya zarar verir.
	Piyosiyenin	Epitel hücre fonksiyonunu bozar.
Bakteriyel hücreden hücreye etkileşim	Biyofilm	Konakçının bağışıklık tepkilerinden ve antibiyotiklerden kaçış
	Quorum-sensing	Virülans faktörlerinin üretimi düzenlenmesi

2.5.1 Membranla İlgili Faktörler

2.5.1.1. Flagella ve Tip 4 Pili

P. aeruginosa, tek bir polar flagelluma ve çok sayıda daha kısa tip 4 piliye sahiptir. Bu proteinli uzantılar hem adezin hem de önemli hareketlilik aracı olarak hizmet eder. Flagella ve pili de inflamatuvar yanıtı tetikleyebilir [37]. *P. aeruginosa*'nın flagella'sı, bakteri yüzeyinden çıkıntı yapan, esas olarak flagellin olarak bilinen protein alt birimlerinden oluşan saç benzeri uzantılardır. *P. aeruginosa* katı yüzeyler üzerinde sürüler halinde dolaşabilirken, flagellum esas olarak sulu veya düşük viskoziteli ortamlarda tirbuşon şeklinde dönerek bakteriyi ileri doğru iten bir kuvvet oluşturarak yüzme hareketliliğinden sorumludur [38].

Bakteri hareketini ve kemotaksiyi kolaylaştıran bir hareket aparatı olarak işlev gören flagella, flagellin ve flagellar başlık proteini FliD aracılığıyla bakteriyel yapışmada rol oynar ve *P. aeruginosa*'daki biyofilmlerin olgunlaşmasını destekler [39]. Flagella, Toll benzeri reseptör 5 (TLR5) aracılığıyla konakçının bağışıklık tepkisini aktive edebilir ve oldukça immünojeniktir [40].

P. aeruginosa ayrıca bakteriyel seğirme ve kaynaşma hareketliliği, çeşitli yüzeylere yapışma ile ilgili olan ve biyofilm oluşumunda, virülans faktörlerinin düzenlenmesinde ve antibiyotik direnç genlerinin değişiminde önemli bir rol oynayan çok sayıda hücre yüzeyi pilisine (tip IV) sahiptir. Seğirme (twitching) hareketliliğinde, tip 4 pili, hücreyi katı yüzeyler boyunca itmek için kısa kancaları gibi uzar ve geri çekilir [41]. Flagella ile birlikte çalışan pili, yarı katı yüzeylerde oldukça koordineli bir hareket şekli olan kaynaşma hareketliliğini kolaylaştırır [42]. Üstelik pili, hedef dokularda mikrokolonilerin oluşumuna yol açan, bakterileri etkili bir şekilde belirli bir yerde yoğunlaştıran ve potansiyel olarak konakçının bağışıklık sistemine ve antibiyotiklere karşı koruma sağlayan agregasyonu indükleyebilir [43,44].

2.5.1.2. Lipopolisakkarit

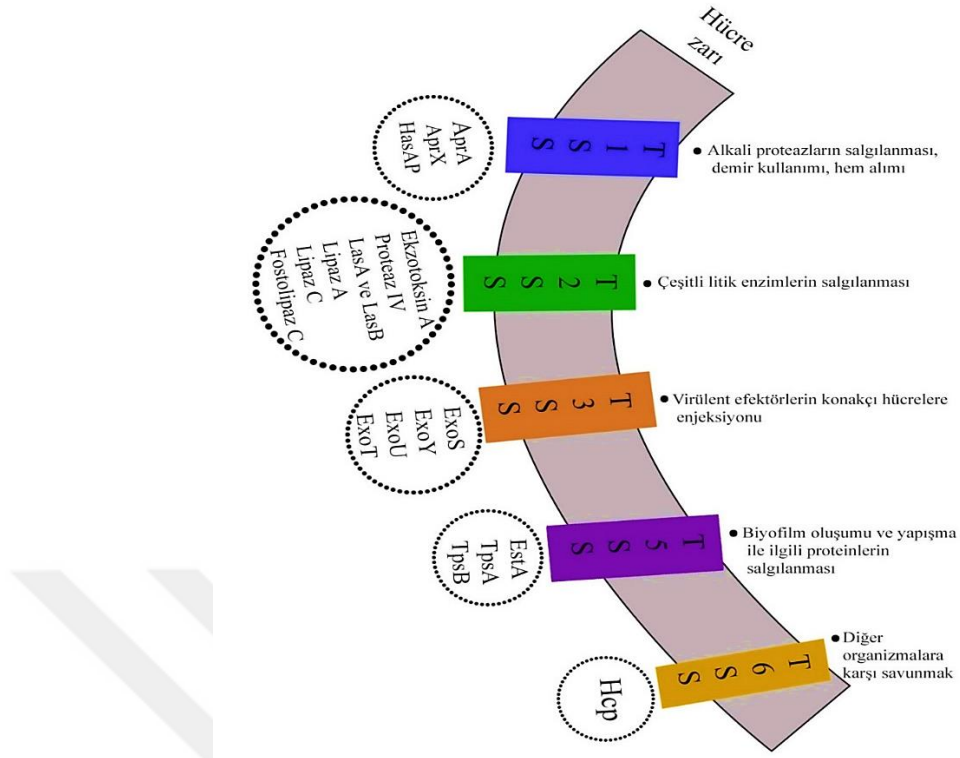
Lipopolisakkarit (LPS), Gram-negatif bakterilerin dış zarının önemli bir bileşenidir ve tüm *P. aeruginosa* suşlarında bulunabilir [45]. Tipik olarak lipit A (endotoksin) olarak bilinen bir hidrofobik alan, tekrarlanmayan bir oligosakarit ve bir dış polisakarit (O-antijen) içerir. LPS, konağın doğuştan gelen ve edinsel bağışıklık tepkilerinin aktivasyonu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir [46]. LPS, nötrofilleri istilacı patojenleri yakalamak için nötrofil hücre dışı tuzaklarını (NETs) serbest bırakmaya teşvik edebilir, ancak bakterileri fagositozdan koruyabilir [45,47]. LPS ile ökaryotik hücreler arasındaki etkileşim, *P. aeruginosa*'nın konakçıya yapışmasına katkıda bulunur [48]. *P.aeruginosa* çekirdek polisakaritinin fosforilasyonu bakterinin hayatta kalması için gereklidir. Spesifik antijeni bakterileri fagositozdan korur ve serotiplemeden sorumlu kısımdır. *P.aeruginosa*'da 20 tip serotip tanımlanmıştır [49].

2.5.1.3. Aljinat

Aljinat, *P. aeruginosa* tarafından üretilen, tekrarlanan mannuronik ve glukuronik asit polimerlerinden oluşan mukoid bir ekzopolisakkarittir. Aljinat, LPS gibi, *P. aeruginosa*'yı kolonize solunum epiteline bağlayan bir adezin görevi görür. Kistik fibroz hastasının akciğerlerindeki ve konakçının inflamatuvar yanıtındaki çevre koşulları, aljinat sentezini artırarak aşırı aljinat üreten mukoid fenotipe dönüşüme yol açar [50]. Aljinat, *P. aeruginosa*'yı konağın bağışıklık tepkisinden ve antibiyotiklerden korur. Aljinatın aşırı salgılanması, *P. aeruginosa*'yı fagositozdan, dehidrasyondan, antibiyotiklerden ve hatta edinilmiş konak tepkisinden korur [51]. Aljinat biyofilm yapısına katkıda bulursa da biyofilm oluşumu için gerekli değildir [52].

2.5.1.4. Salgı Sistemleri

Şimdiye kadar tip I salgılama sisteminden (T1SS) tip 6 salgılama sistemine (T6SS) kadar altı farklı salgı sistemi sınıfı tanımlanmıştır (Şekil 2.1). Gram-negatif fırsatçı insan patojeni *P. aeruginosa*, geniş bir salgılama sistemleri paneline sahiptir. Gram-negatif bakterilerle karakterize edilen altı salgı makinesinden beşi *P. aeruginosa*'nın elindedir [53].



Şekil 2. 1. *P. aeruginosa*'nin salgı sistemleri [54].

Tip 1 sekresyon sistemi (T1SS), *P. aeruginosa* infeksiyonu sürecinde inflamatuvar fazda aktif rol oynayan Gram negatif bakterilerdeki en basit sekresyon sistemlerinden biridir. *P. aeruginosa*'da Apr ve HasF olarak iki tip T1SS vardır. Apr, alkalın proteazlar (AprA) ve AprX'in (işlevi bilinmeyen protein) salgılanmasında yer alırken, HasF T1SS, HasAp'nin salgılanmasında ve ayrıca demirin kullanılmasında rol oynar [53].

P. aeruginosa'nın Tip 2 salgı sistemi (T2SS), potansiyel solunum yolu infeksiyonuyla ilişkili çeşitli aktivitelere sahip olan başlıca hücre dışı toksinleri salgılar [54]. *P. aeruginosa*'da iki T2SS karakterize edilmiştir; Xcp T2SS ve Hxc T2SS. Birincisi, Ekzotoksin A (PEA), Proteaz IV, Elastaz A ve B (LasA ve LasB), Lipaz A ve C (LipA ve LipC) ve Fosfolipaz C (PLC) dahil olmak üzere bakteriyel infeksiyon sürecine katılan çok sayıda ekzoproteini salgılar. İkincisi yalnızca fosfat sınırlayıcı koşullar altında hücre dışı alkalın fosfataz aktivitesine katkıda bulunan düşük moleküler ağırlıklı lökosit alkalın fosfatazları (LapA ve LapB) salgılar [55].

Tip 3 sekresyon sistemleri (T3SS), toksinleri konakçı hücrelere doğrudan enjekte etme mekanizması olarak *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella* ve *Pseudomonas* türleri arasında paylaşılmaktadır. *P. aeruginosa*'nın tip 3 sekresyon sistemi en önemli virülans faktörlerinden biridir. Efektör proteinlerin bakterilerden bakteri membranları boyunca ve ökaryotik membranda bir gözenek oluşturan iğne benzeri bir uzantı yoluyla ökaryotik sitoplazmaya translokasyonunu sağlayan karmaşık pilus benzeri bir yapıdır [41]. T3SS yoluyla enjekte edilen ve farklı suşlarda değişken şekilde eksprese edilen dört iyi bilinen efektör vardır: ekzoenzim S (exoS), ekzoenzim T (exoT), ekzoenzim Y (exoY) ve ekzoenzim U (exoU). İki yeni efektör önerilmiştir (PemA ve PemB) ve flagellar proteinler ve PilA gibi diğer proteinler de bu sistem yoluyla yer değiştirebilir [8]. T3SS, *P. aeruginosa*'nın konakçıyı istila etmesini ve enfekte etmesini sağlar ve patojeniteyi artırır. Enfeksiyonların klinik belirtileri ve ciddiyeti ile doğrudan ilişkilidir ve bakteriyel virülansın önemli bir faktörü olarak görev yapar [56]. T3SS'nin klinik infeksiyonların ciddiyeti ile yakın ilişkisi, onu *P. aeruginosa*'nın en kapsamlı şekilde incelenen virülans faktörlerinden biri ve antivirülans ilaç keşfi ve geliştirilmesi için kesinlikle en umut verici terapötik hedeflerden biri haline getirmektedir [57].

Tip 5 sekresyon sistemi (T5SS), *P. aeruginosa*'nın ototransporterler ve iki partnerli sekresyon sistemi olarak ikiye ayrılabilen en basit sekresyon sistemidir. T5SS, esterase (EstA) ve iki partnerli sekresyon A ve B (TpsA ve TpsB) dahil olmak üzere bakteriyel virülans ve yapışma ile ilgili çeşitli proteinleri salgılar [58]. EstA, ramnolipid ekspresyonunu artırabilir ve ardından biyofilm oluşumunu teşvik edebilir; TpsA ve TpsB, esas olarak büyük virülans proteinleri salgılayan, bağışıklık kaçışına katılan ve bakteriyel yapışmayı artıran iki β -varil dış membran ekzoproteindir [59]. Tip 6 salgılama sistemi (T6SS), *P. aeruginosa*'da üç bağımsız T6SS hemolizin çekirdek düzenlenmiş protein (Hcp) salgılama adasının (H1-, H2- ve H3-T6SS) karakterize edildiği çok yönlü bir salgılama sistemidir [60]. Konak mikrobiyal florasını yok eden bakteriyel toksinler ürettiğinden bakteriyel rekabet için önemlidir, ancak aynı zamanda konak savunmasına karşı da küçük bir rol oynar [61].

2.5.2. Salgılanan Faktörler

2.5.2.1. Piyosiyanin

Piyosiyanin, kültürdeki *P. aeruginosa* kolonilerinin mavi-yeşilimsi renginden sorumlu, redoks aktif bir ikincil metabolittir [62]. Piyosiyanin, oksijenin toksik formları olan süperoksit ve hidrojen peroksit oluşumunu katalize eder [2]. Piyosiyanin'in, Interlökin 8'i (IL-8) arttırmak, konakçı tepkisini baskılamak ve nötrofillerde apoptozu indüklemek gibi çok sayıda patojenik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Solunum yolu epitelinin silli yapısını bozarak akciğer dokusunda oksidatif hasara neden olur. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Mycobacterium smegmatis*, *Brucella* spp., *Shigella* spp., *Bacillus anthracis*, *Bordetella* spp. ve *Vibrio* spp.'ye karşı bakterisidal etkiye sahiptir [63].

2.5.2.2. Elastaz

P. aeruginosa iki tip elastaz üretir, LasA (Staphylolysin) ve LasB (Pseudolysin). Akciğer dokusu ve kan damarlarının önemli bir bileşeni Elastini adı verilen, parçalamak için sinerjistik olarak çalışırlar ve akciğer parankiminde hasara ve elastin içeren dokularda hemorajik lezyonlara (ektima gangrenozum) neden olurlar. Bu elastazlar, konakçı dokuları ve kollajen, immünoglobulin G (IgG), tamamlayıcı proteinler ve yüzey aktif madde proteinleri A ve D gibi bağışıklık bileşenlerini parçaladıkları için çok önemli virülans faktörleri arasında yer almaktadır. Kronik *Pseudomonas* infeksiyonlarında LasA ve LasB enzimlerine karşı antikorlar oluşur [2,64]. Bir çinko metaloproteaz olan LasA, elastolitik aktiviteyi ve yüksek stafilolitik aktiviteyi artırarak *Staphylococcus aureus*'un hızlı parçalanmasına neden olur, ancak proteolitik aktiviteye sahip değildir. LasA elastini parçalamaz ancak LasB elastazın elastolitik aktivitesini artırır [65]. Bir metaloproteaz olan LasB, elastin, kompleman sisteminin bileşenleri, serum α 1-proteinaz inhibitörü, immünoglobulin A (IgA), immünoglobulin G (IgG), müsinler, fibrin, kollajen, yüzey aktif madde proteinleri A ve D'yi parçalar. Ayrıca solunum yolu epitelindeki sıkı bağlantıları kırarak epitelin geçirgenliğini artırır ve infeksiyon bölgesindeki nötrofil sayısında artışa neden olur [64,66].

2.5.2.3. Alkalın Proteaz

Alkalın proteaz (AprA), *P. aeruginosa*'nın çinkoya bağımlı metalo-endopeptidazlarından biridir ve aynı zamanda aeruginolizin olarak da bilinir. AprA bakteriyel virülans ile ilişkilidir ve kompleman aracılı eritrosit lizisine müdahale eder. Tip I salgı sistemiyle salgılanır ve yüksek proteolitik aktiviteye sahiptir. Enzim 50 kDa moleküler ağırlığa sahip olup en iyi aktiviteyi alkali pH değerlerinde gösterir. AprA, kompleman sisteminin C2 bileşenini parçalayarak bakteriyel klirensi inhibe eder, böylece kompleman aracılı fagositozu önler. AprA, bazal laminanın biyolojik olarak aktif bir parçası olan laminini bozar, dolayısıyla alkalın proteazın *P. aeruginosa* enfeksiyonunda istila ve hemorajik doku nekrozunda bir işlevi olabilir. Ek olarak AprA, interlökin-6'yı çok verimli bir şekilde parçalayabilir [67,68].

2.5.2.4. Sideroforlar

Sideroforlar, demir birikimine yardımcı olmak için bakteriler tarafından salgılanan demir şelatlayıcı bileşiklerdir. *P. aeruginosa* tarafından iki siderofor üretilir: floresan yüksek afiniteli peptidik piyoverdin ve nispeten düşük afiniteli piyochelin [69]. Piyoverdin ve Piyochelin, bakteriyel büyümeyi desteklemek için transferrin ve laktoferrinden demirleri, özellikle de Fe^{3+} 'ı şelatlayabilir ve her ikisi de *P. aeruginosa*'nın tam virülansı için gereklidir [70]. Demirlere karşı düşük afiniteye sahip olmasına rağmen, piyochelin, *P. aeruginosa*'nın demir nişindeki vazgeçilmez rolünü gösteren güçlü demir şelatörlerinin varlığında bile, piyoverdin yerine bakteriler tarafından üretilebilir [71].

P. aeruginosa tarafından üretilen Piyoverdin, bir peptit zincirinden ve bir kromofordan oluşur. Piyoverdinler özellikle *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. syringae*, *P. putida* dahil olmak üzere floresan *Pseudomonas* türlerinin tipik bir özelliğidir ve düşük demir koşulları altında üretilir. Piyoverdin, siderofor olmasının yanı sıra, hücre dışı virülans faktörü proteaz ve ekzotoksin A'nın üretimini tetiklediği için bir sinyal molekülüdür. Bu nedenle bakteriyel virülans ve ayrıca biyofilm gelişimi için önemlidir [69,72].

P. aeruginosa'nın ikinci sideroforu olan Piyochelin, tüm *P. aeruginosa* türleri tarafından sentezlenir. Piyochelinin demire afinitesi, pyoverdine göre çok daha düşüktür [73]. *P. aeruginosa* ilk önce piyochelin üretir ve ortamdaki demir konsantrasyonu çok düşük olduğunda piyoverdin üretmeye başlar. Piyochelin-demirin özellikle piyosiyanin varlığında oksidatif hasara ve inflamasyona neden olduğu belirlenmiştir [69,74].

2.5.2.5. Toksinler

T3SS tarafından salgılanan dört efektör, yani ekzoenzim S (exoS), ekzoenzim T (exoT), ekzoenzim Y (exoY) ve ekzoenzim U (exoU), genel olarak *P. aeruginosa*'nın toksinleri olarak anılır. *P. aeruginosa*'nın bilinen diğer toksinleri arasında Lipaz, Fosfolipaz C (PLC) ve Ektoksin A bulunur [8].

ExoS, hücre iskeleti yapısını bozarak bağışıklıktan kaçmaya yardımcı olur. Tip 3 salgı sistemi tarafından salgılanan ExoU, konak hücrenin hızlı ölümüne neden olan bir sitotoksindir. Bu ölüm, hücre zarı bütünlüğünün kaybı, tipik nekroz ile karakterizedir. ExoU, fosfolipaz A2 aktivitesine sahiptir ve ayrıca fagositlerin alımını da bozar. ExoU'nun ExoS'tan 100 kat daha sitotoksik olduğu düşünülmektedir. ExoT ile birlikte proapoptotik yolları aktive ettiği ve diğer epitel hücre tiplerinde yara iyileşmesini geciktirdiği bilinmektedir. ExoT, tüm virülen *P. aeruginosa* klinik izolatlarında kodlanan ve eksprese edilen tek tip 3 salgı sistemi ekzoenzimidir ve bu virülans faktörünün *P. aeruginosa*'nın patogenezinde temel bir rol oynadığı düşünülmektedir. ExoT, kollajen ve elastin dahil ökaryotik proteinlere saldırarak hücre yapısal proteinlerine zarar verir. ExoT'nin yara iyileşmesini inhibe ettiği, aktin hücre iskeletini değiştirdiği, hücre migrasyonunu ve hücrenin sitokinez bölünmesini inhibe ettiği belirtildi. Dördüncü efektör protein olan ExoY, tip III sekresyon sistemi yoluyla hedef hücrelerde yer değiştirebilen bir adenilat siklaz enzimidir. ExoY'nin ayrıca aktin hücre iskeletinin bozulmasına neden olduğu da bildirildi [64,75,76].

Lipazlar T2SS tarafından salgılanır ve lipidleri parçalar, serbest yağ asitlerini ayarlar ve son ürünler olarak gliserol içerir [53]. Lipaz A (LipA), *P. aeruginosa* tip II salgı sistemi tarafından salgılanan başlıca hücre dışı lipazdır [77]. Ana akciğer yüzey aktif

maddesi olan lipid dipalmitoilfosfatidilkolin ve konakçı hücre zarlarını parçalayarak dokulara zarar verebilir. Ayrıca çalışmalar LipA'nın, *P. aeruginosa*'nın kendisi tarafından üretilen hücre dışı biyofilm matrisindeki aljinat ile elektrostatik etkileşimler yoluyla etkileşime girerek bakteriyel ilaç direncine katkıda bulunduğunu göstermiştir [78].

Fosfolipaz C, *P. aeruginosa*'nın dış zarından tip II sekresyon sistemi ile salgılanır. *P. aeruginosa*, hemolitik PLC (PlcH) ve hemolitik olmayan PLC (PlcN) olmak üzere iki tip fosfolipaz C (PLC) üretir. Fosfolipaz C'nin sitotoksik olduğu ve çeşitli ökaryotik hücrelerde sinyalleşme süreçleri üzerinde değiştirici bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir [79]. Çeşitli çalışmalar hemolitik PLC'nin konakçının damar geçirgenliğini, organ hasarını ve hücre ölümünü indükleyebileceğini göstermiştir. Düşük hemolitik PLC konsantrasyonları IL-8 ekspresyonunu artırabilir ve pulmoner inflamasyon ve doku tahribatına katılan aşırı nötrofil alımına neden olabilir [80].

Ekstoksin A, tip II salgı sistemi tarafından hücre dışına salgılanan bir toksindir. ExoA, *P. aeruginosa*'nın virülansında önemli bir rol oynar. Difteri toksinine benzer şekilde uzama faktörü 2'yi (EF-2) inhibe ederek etkisini gösterir ve dolayısıyla ADP-ribosil transferaz özelliği ile protein sentezini inhibe ederek hücre ölümüne neden olur. ExoA'nın enfeksiyon sırasında konakçı tepkisini baskıladığı gösterilmiştir. Ayrıca ExoA'nın lokal doku hasarı ve istilası üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu belirtilmektedir [46,75].

2.5.3. Bakteriyel Hücreden Hücreye Etkileşim

2.5.3.1. Biyofilm

Doğada çoğu bakteri farklı yüzeylere yapışabilir ve biyofilmler oluşturabilir [81]. Biyofilm, hücre dışı polimerik maddelerin (EPS) kendi kendine ürettiği bir matrisle kaplanmış karmaşık bir bakteri topluluğudur ve sıcaklık dalgalanması ve besin mevcudiyeti gibi yaşam koşullarındaki beklenmedik değişiklikler sırasında türlerin hayatta kalması için temel stratejilerden biridir [82]. Bir biyofilm içindeki bakteriler, konakçının bağışıklık tepkilerinden kaçabilir ve antimikrobiyal tedavilere, planktonik

muadillerine kıyasla 1000 kat daha fazla direnç gösterebilir [83]. *P. aeruginosa* iyi bilinen bir biyofilm oluşturunucudur; kistik fibrozis akciğer polimikrobiyal ortamında rekabet etmek, hayatta kalmak ve hakim olmak için biyofilmi kritik bir silah olarak kullanır ve ayrıca tıbbi malzemeler (idrar kateterleri, implantlar, kontakt lensler) dahil olmak üzere çeşitli yüzeylerde etkili bir şekilde kolonize olur [84].

P. aeruginosa biyofilm matrisinin öncelikle polisakkaritleri, hücre dışı DNA'yı (eDNA), proteinleri ve lipitleri kapsadığı gösterilmiştir. Biyofilm biyokütlesinin %90'ından fazlasından sorumlu olan matris, biyotik ve abiyotik yüzeylere yapışma için bir iskele görevi görür ve zorlu çevre koşullarında (antibiyotikler ve konakçının bağışıklık tepkileri) kapalı bakteriler için barınak görevi görür. Aynı zamanda biyofilm topluluğu için gerekli besin maddeleri, enzimler ve sitozolik proteinler de dahil olmak üzere bir kamu malları repertuarı sağlar. Matris aynı zamanda hücreler arası iletişimi de kolaylaştırır [86,87].

Aljinat, Psl ve Pel, biyofilm matrisindeki ana bileşenlerden sorumlu üç ekzopolisakkarittir. Özellikle bakteri hücrelerinin antibiyotiklerden ve insan bağışıklık sisteminden korunmasıyla ilgili olarak çeşitli biyolojik işlevleri yerine getirirler [85]. Psl, mannoz ve galaktoz açısından zengindir ve ilk bağlanma ve olgun biyofilm oluşumunda rol oynar [58]. Bu ekzopolisakarit, sesil hücrelerin (bir yüzeye tutunan hücreler) yüzeylere yapışması ve hem mukoid olmayan hem de mukoid suşların biyofilm başlatılması sırasında hücre-hücre etkileşimleri için gereklidir [86,87]. Ek olarak Psl, biyofilm bakterilerini antimikrobiyallerden ve nötrofil fagositozundan koruyarak kalıcı enfeksiyona ulaşmak için etkili bir savunma haline gelir [88,89]. Pel, hava-sıvı arayüzünde bir zar oluşumu için gerekli olan, glikoz açısından zengin, selüloz benzeri bir polimerdir [90]. Psl gibi Pel de, mukoid olmayan suşlarda biyofilmin temel bir matris bileşenidir ve biyofilm bütünlüğünün korunmasının yanı sıra yüzeye tutunmanın başlatılmasında rol oynar [91,92]. Son zamanlarda Pel'in *P. aeruginosa* biyofilmlerinde hücre-hücre etkileşimlerinde rol oynadığı ve biyofilm oluşumunun erken aşamalarında toplum için yapısal bir iskele sağladığı gösterilmiştir [91]. Ayrıca Pel içeren biyofilmlerin, antibiyotik kolistine dirençli olduğu ve nötrofillerin aracılık ettiği öldürmeye daha az duyarlı olduğu gösterilmiştir [93].

2.5.3.2. Quorum Sensing (QS)

Quorum sensing, Gram-negatif bakteriler tarafından paylaşılan ve bakteri zarları boyunca serbestçe yayılan otomatik indükleyiciler olarak da bilinen Asil Homoserin Laktonlar (AHL) gibi küçük moleküller aracılığıyla bakterilerden bakterilere hücre sinyalleşmesine izin veren bir mekanizmadır [94]. Bakteri gruplarının popülasyon yoğunluğunu algılamasına ve değişen hücre yoğunluklarına yanıt olarak davranışları koordine etmesine olanak tanır [95].

P. aeruginosa'nın dört farklı QS sistemi vardır: asil-homoserin lakton QS sistemleri (Las ve Rhl), kinolon QS sistemi (Pqs) ve yeni QS sistemi (Iqs). Las sistemi diğer üçünü pozitif olarak kontrol ediyor. Benzer şekilde, Iqs sistemi Pqs'yi olumlu yönde etkiler, bu da Rhl'yi uyarır, bu da Pqs üzerinde olumsuz etkiye sahiptir [96]. Bu oto sistemler önemli seviyelere ulaştığında düzenleyici genlerini aktive ederek virülans faktörlerinin transkripsiyonunu artırır [97]. Las, rhl, pqs ve iqs'in işlevi sinyal üretimini ve virülans ifadesini koordine etmektir. Las sistemi virülans faktörleri LasB ve LasA elastaz, alkalın proteaz, ekzotoksin A ve biyofilm oluşumunu kontrol ederken, rhl sistemi piyosyanin pigmenti, rhamnolipidler, LasB elastaz ve hidrojen siyanür üretimini kontrol eder [98,99].

QS, virülans faktörü, sporilizasyon, mortalite, toksin üretimi ve biyofilm oluşumu gibi önemli mikrobiyal süreçleri düzenlediği için önemli bir virülans olarak kabul edilmektedir. QS mekanizması biyofilm, virülans faktörleri ve antibiyotik direnci gibi etkilere neden olduğundan halk sağlığını tehdit etmektedir. Dolayısıyla QS'nin engellenmesi mikrobiyal patogenezi kontrol etmede önemli bir stratejidir [100,101].

2.6. LABORATUVAR TANISI

İncelenecek örnekler infeksiyon bölgesine bağlı olarak balgam, idrar, beyin, omurilik sıvısı, trakeal aspirat, irin, yanık sürüntüleri ve kandan alınabilir. Seçici besiyeri olarak McConkey agar ve Eosin Metilen Mavisı agar (EMB) gibi besiyerlerinde ve genel besiyeri olarak %5 koyun kanlı agar, Mueller Hinton Agar (MHA), triptik soya agar gibi besiyerlerinde 37°C'de kolaylıkla büyürler. Kültürde aromatik kokunun varlığı,

pigment oluşumu, mukoid ve hemolitik koloni oluşumu tanıyı kolaylıkla koyabilmektedir [102].

P. aeruginosa karbonhidratları fermente etmez. Glikoz ve ksiloz gibi şekerler üzerinde oksidatif etkisi vardır. *P. aeruginosa* oksidaz pozitifdir. Yani sitokrom c oksidazı içeren bir elektron taşıma zinciri sistemine sahiptir. Sitokrom c oksidaz içermesi *Pseudomonas* cinsini *Enterobacteriaceae* familyasından ayıran temel özelliklerden biridir. Farklı şekerleri metabolize etmek için 2-keto-deoksiglukonat yolunu kullanır. Bu nedenle ATP üretmek için elektron taşıma zincirine ihtiyaçları vardır. Bu özellik *Pseudomonas* cinsini aerobları zorunlu kılar. Bununla birlikte *P. aeruginosa* anaerobik koşullar altında da hayatta kalabilir, bu fark onun nitratı terminal elektron alıcısı olarak kullanma yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Böylece *P. aeruginosa* farklı çevre koşullarında varlığını sürdürebilmektedir. İndofenol oksidaz, sitrat ve L-arginin dihidrolaz için pozitifler. L-lisin dekarboksilaz ve L-oritin dekarboksilaz için negatifler. Nitratı gaz üretirler. Ayrıca 41-42°C'de üreme yeteneği önemli ve ayırt edici bir özelliktir [102].

Aljinat üretebilen suşlarda mukoid M tipi koloniler oluşurken, çok az aljinat üretebilen veya hiç üretmeyen suşlarda R tipi koloniler oluşur. Pigment oluşturma yeteneği olmayan türlerin glikoz oksidasyonu ve algerin dihidrolizi ayırt edicidir [17]. Laboratuvarlarda yapılan rutin biyokimyasal testlerin yanı sıra cins ve türlerin tanımlanmasında ticari otomatik cihazlar da sıklıkla kullanılmaktadır [103].

2.7. KLİNİK BULGULAR

P. aeruginosa insanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olan önemli bir fırsatçı patojendir. Hastane ortamına kolay uyum sağlamaları nedeniyle dirençli suşların oldukça arttığı görülmektedir [104]. *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının oluşabilmesi için bakteriyel virülans faktörlerinin yanı sıra insan faktörlerinin de uygun olması gerekir; Vücut direncinin baskılanması, yaşlılık, bağışıklık sistemini baskılayan ilaç kullanımı, yenidoğanlar ve özellikle prematüre bebekler *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına karşı hassastır. Sağlıklı kişilerde çeşitli yollarla savunma mekanizmasını bypass ederek bakterilerin dokuya girmesini önlemek için tıbbi müdahalelere başvurulur; örneğin

kateter, solunum cihazı, kateter uygulaması vb. işlemler gerekmektedir. Ayrıca yanık yarası gibi doku hasarı olan bölgelere bakterilerin girişi ve yerleşmesi kolaylaşır [17].

2.7.1. Solunum Yolu İnfeksiyonları

P. aeruginosa'nın neden olduğu solunum yolu infeksiyonları sıklıkla klinikte entübasyon, bronkoskopi ve diğer solunum cihazlarının uygulanması sonrasında ortaya çıkar. Konağın lokal solunum ve sistemik savunmasında hasar olduğu durumlarda da görülür. *P. aeruginosa* alt solunum yolu infeksiyonu olarak ortaya çıktığında trakeaobronşit gibi hafif klinik durumlarda veya nekrotizan pnömoniye neden olan ciddi klinik durumlarda ortaya çıkabilir [17].

Kistik fibrozis hastalarında, kronik akciğer hastalarında ve nötropenili hastalarda solunum yolu görülme sıklığı oldukça yüksektir. Kistik fibrozlu hastalarda infeksiyonları yaygındır, çünkü bu hastalarda *P. aeruginosa*'nın kistik fibroz epitel hücrelerine yapışmaya özel bir eğilimi vardır ve konakçıya yerleştikten sonra, kalıcı hale gelir ve zamanla mukoid olmayan formdan mukoid forma dönüşerek prognozun kötüleşmesine neden olur. Bu hastalardan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının çoğunlukla mukoid olduğu ve çoğu antibiyotiğe dirençli olduğu bilinmektedir [2,102].

2.7.2. Deri ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları

P. aeruginosa'nın apseler, yanık yaraları, ektima gangrenozum, püstüler deri ve yumuşak doku infeksiyonlarının ana nedeni olduğu gösterilmiştir. İnfeksiyon lokal veya yaygın olabilir. Ciddi yanıklardan kaynaklanan yaralara kolonize olur ve doku invazyonuna neden olur [2]. Yanık bölgesi nemlenip nötrofillerin yaraya ulaşması zorlaştıkça hastalar bu infeksiyona karşı dirençli hale gelir. *P. aeruginosa* yara bölgesinin iyileşmesini engelleyen ve fibrinin parçalanmasına neden olan plazminojen enzimini salgılar [105].

2.7.3. İdrar Yolu İnfeksiyonları

P. aeruginosa hastane kaynaklı idrar yolu infeksiyonları arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Üriner kateterizasyon, cerrahi ve böbrek nakli infeksiyonunun gelişimini kolaylaştırır [102]. Üriner sistem, *Pseudomonas* bakteriyemisinin %40'a varan oranda birincil odağını oluşturur. Üriner sistem müdahaleleri, böbrek nakli gibi cerrahi işlemler, üriner sistem taş hastalıkları ve kronik prostatit *P. aeruginosa* infeksiyonuna zemin hazırlayan önemli risk faktörleridir [27].

2.7.4. Bakteriyemi ve Endokardit

P. aeruginosa'nın neden olduğu bakteriyemi, diğer gram-negatif bakterilerin neden olduğu bakteriyemiden klinik olarak ayırt edilemez. Ancak *P. aeruginosa*'nın genellikle bağışıklık yetersizliği olan hastaları etkilemesi, antibiyotiğe dirençli suşların tedavisinin zor olması ve mevcut virülansı nedeniyle etkilenen hastalarda ölüm oranı daha yüksektir. Bakteriyemi en sık nötropeni, diyabet, geniş yanıklar ve hematolojik maligniteleri olan hastalarda görülür. Bakteriyemilerin çoğu alt solunum yolu, idrar yolu, deri ve yumuşak doku infeksiyonlarından (özellikle yanık yarası infeksiyonları) kaynaklanır. Az sayıda bakteriyemik hastada görülse de karakteristik deri lezyonları (ektima gangrenozum) gelişebilir [2].

P. aeruginosa, intravenöz ilaç kullananların doğal kalp kapaklarında ve protez kalp kapağı olan hastaların protez kalp kapaklarında enfektif endokardite neden olmaktadır [10]. Sıklıkla triküspit kapakta infeksiyona neden olur [26].

2.7.5. Merkezi Sinir Sistemi İnfeksiyonları

P. aeruginosa menenjit ve beyin apsesine neden olur. Merkezi sinir sistemi infeksiyonu; (1) kulak, mastoid ve paranasal sinüslerde infeksiyon, (2) kafa travması, cerrahi veya invaziv tanı prosedürleri sonucu beyine veya subaraknoid boşluğa doğrudan aşılama, (3) üriner sistem, akciğer veya endokardiyum gibi bir odaktan bakteriyemik yayılım. *P. aeruginosa*, kanser hastalarında merkezi sinir sistemi infeksiyonunun *Listeria monocytogenes*'ten sonra ikinci en yaygın nedenidir [10,26].

2.7.6. Göz İnfeksiyonları

Göz infeksiyonu, kornea travması (kontakt lens aşınmaları, göz yüzeyinde çizikler) ve *P. aeruginosa* ile kontamine olmuş su ile temas sonrasında meydana gelir [2]. Kornea ülseri oluşuktan sonra tedavi edilmezse görme kaybına yol açabilecek ciddi infeksiyonlara neden olur [26].

2.7.7. Kulak İnfeksiyonları

P. aeruginosa sağlıklı bireylerin kulaklarında nadir olarak bulunsa da yaralanma, iltihaplanma ve nemlenme durumlarında kulağa yerleşebilmektedir. Dış kulak yolu infeksiyonlarının ana bakteriyel patojenlerinden biridir. Yüzücülerde sıklıkla 'yüzücü kulağı' adı verilen bir infeksiyona neden olur [26]. Diyabetik ve yaşlı hastalarda malign dış kulak yolu infeksiyonu görülür. Dış kulak ve orta kulak infeksiyonu sonrasında mastoidi gelişebilmektedir [10].

2.8. *P. aeruginosa* İNFEKSİYONLARININ TEDAVİSİ

P. aeruginosa infeksiyonlarının tedavisi, bakterilerin birçok antibiyotiğe karşı direnç geliştirebilmesi nedeniyle oldukça zordur [10]. Geniş spektrumlu penisilinler (azlosilin, mezlosilin, tikarsilin, piperasilin), üçüncü kuşak sefalosporinler (sefaperozon, seftazidim), karbapenemler (imipenem, meropenem), monobaktamlar (aztreonam), aminoglikozidler (amikasin, gentamisin), florokinolonlar (siprofloksasin) ve polimiksinler (polimiksin B ve kolistin), *Pseudomonas* türlerine karşı oldukça etkili antibiyotiklerdir. Önerilen tedavi aminoglikozitlerin beta-laktamlar, üçüncü kuşak sefalosporinler, monobaktamlar veya karbapenemlerle kombine edilmesidir. Antimikrobiyal ajanın erken ve uygun dozda verilmesi durumunda monoterapinin de etkili olabileceği bilinmektedir [63]. Antibiyotik tedavisinin yanı sıra enfekte kalp kapakçıklarının ve vejetasyonlarının çıkarılması, apsenin drenajı, yaranın debridmanı ve infeksiyonun odağına göre cerrahi işlemler de yapılmalıdır [26]

Son yıllarda *P. aeruginosa*'ya karşı direnç oranlarının artması, tedavinin antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarına göre hastaya özel planlanmasını gerektirmektedir. Günümüzde bu tür dirençli mikroorganizmalara karşı etkili olabilecek yeni ajanların geliştirilmesine yönelik çalışmalar henüz başarıya ulaşamamıştır. Polimiksinler gibi eski ve iyi bilinen ilaçların kullanımı gündeme gelmiştir. Gelecekte kullanılması muhtemel tedavi seçenekleri arasında sürekli antimikrobiyal ajan infüzyonu ve immünoterapi yer almaktadır [106].

2.9. ANTİBİYOTİK DİRENCİ

P. aeruginosa'nın yok edilmesi, antibiyotiklere karşı gösterdiği olağanüstü direnç kapasitesi nedeniyle giderek zorlaşıyor. Aminoglikozitler, kinolonlar ve β -laktamlar dahil olmak üzere çeşitli antibiyotiklere karşı direnç gösterir [107]. Genel olarak *P. aeruginosa*'nın antibiyotik saldırısına karşı kullanılan ana mekanizmaları doğal (intrinsik), kazanılmış ve adaptif direnç olarak sınıflandırılabilir.

2.9.1. Doğal (İntrinsik) Direnç

Doğal direnç, bir mikroorganizmanın antimikrobiyal maddelere karşı direnç gösterme yeteneğidir. Fırsatçı patojenler *P. aeruginosa* gibi, çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı yüksek içsel dirence sahiptir [108]. *P. aeruginosa*'daki doğal antimikrobiyal direnç, dış membran geçirgenliğinde bir azalma, Çoklu İlaç Direnci akış pompalarının ekspresyonu ve antibiyotiği etkisiz hale getiren enzimlerin üretimi dahil olmak üzere çeşitli mekanizmaları içerir [109]. Dış zarın geçirgenlik bariyeri, antimikrobiyallerin bakteri hücrelerine nüfuz etmesini önler. Bu azalmış membran geçirgenliği esas olarak karbapenemlerin hedef aldığı ana proteinler olan OprD (porin D) gibi dış membran porin proteinlerinin değişmesi nedeniyle meydana gelir [110].

Bakteriyel hücreler, antibiyotikleri seçici olarak hedef alan enzimleri sentezler ve bunları, spesifik kimyasal parçaların eklenmesi veya antibiyotik molekülünün tamamen yok edilmesi gibi kimyasal değişiklikler yoluyla etkisiz hale getirir. Antibiyotiği etkisiz hale getiren enzimler, antibiyotikleri hidrolize ederek antimikrobiyallere karşı direnç kazandırır. Enzime bağımlı direnç, hem plazmid hem

de kromozomal olarak kodlanan enzimleri içerir ve bu enzimlerin üretimi, edinilmiş veya içsel direncin gelişmesinden kaynaklanabilir [111].

Bakteriyel akış pompaları, mikroorganizmaların antimikrobiyal maddelere direnç göstermesine ve zararlı maddeleri (örn. antibiyotikler, metabolitler vb.) hücrenin içinden dışarı pompalayarak iç hücre ortamını düzenlemesine olanak tanır. Bazı *P. aeruginosa* suşlarında, yapısal olarak eksprese edilen bir akış pompası olan MexAB-OprM, çoğu β -laktamlara ve diğer birçok antimikrobiyale karşı içsel dirençte rol oynar [112]. MexXY-OprM pompası aynı zamanda *P. aeruginosa*'nın tetrasiklin, eritromisin ve gentamisine karşı içsel direncinde de rol oynar. Akış pompaları, eritromisin, roksitromisin, linkozamidler, ketolitler, glisilsiklinler ve aminoglikozidler dahil olmak üzere çeşitli antimikrobiyallere karşı direnç kazandırmıştır [110].

2.9.2. Kazanılmış Direnç

P. aeruginosa'da kazanılmış direncin gelişimi, yatay gen transferi ve kromozomal gen mutasyonları yoluyla dirençten sorumlu dış genlerin kazanılmasından kaynaklanabilir. Mutasyonlardan kaynaklanan kazanılmış direnç, β -laktamlar, florokinolonlar, aminoglikozitler ve polikatyonik antimikrobiyaller dahil olmak üzere çeşitli antibiyotik sınıflarına karşı direnç sağlar [113].

Ek direnç mekanizmaları arasında akış pompalarının mutasyonel yukarı regülasyonu, antibiyotiklere karşı geçirgenliğin azalması, mutasyonlar yoluyla hedef bölge değişiklikleri ve antibiyotiği değiştiren enzim üretimi yer alır. Bu tür mekanizmalar antibiyotiğin kimyasal olarak değişmesine veya yok olmasına neden olur. Antibiyotiklerin kimyasal değişimine neden olan enzimlerin üretimi, kazanılmış direncin önemli bir mekanizmasıdır. Bu tür değişikliklerin en yaygın türleri fosforilasyon (kloramfenikol ve aminoglikozitler), asetilasyon (kloramfenikol, streptograminler ve aminoglikozitler) ve adenilasyondur (aminoglikozitler ve linkozamidler) [113]. Yaygın antibiyotik değiştirici enzimler arasında aminoglikozid değiştirici enzimler (örnek, aminoglikozid asetiltransferazlar, aminoglikozid nükleotidiltransferazlar, aminoglikozid fosforil transferazlar), edinilmiş β -laktamazlar, karbapenemazlar, genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (ESBL'ler), 16s

rRNA metilazları ve lipopolisakarit (LPS) modifikasyonlarında rol oynayanlar [110,114].

2.9.3. Adaptif Direnç

Adaptif direnç, antimikrobiyal ajanların (örneğin antibiyotikler) veya ortam, pH, sıcaklık, oksijen ve diğer büyüme koşullarındaki bir değişiklik gibi diğer çevresel streslerin (kimyasal veya fiziksel) varlığına yanıt olarak ortaya çıkan indüklenebilir bir dirençtir [14]. Adaptif direncin aksine, doğal ve kazanılmış direnç, geri dönüşü olmayan bir fenotiple karakterize edilir ve antibiyotiklerin ve çevresel uyaranların varlığından bağımsızdır [115]. Antibiyotiklerin yanı sıra ısı şoku, DNA stresi (SOS tepkisi), poliaminler, besin eksiklikleri, biyositler, anaerobiyoz, katyon seviyeleri, karbon kaynaklarındaki değişiklikler gibi çeşitli çevresel faktörler ve biyofilm oluşumu ve kaynaşan hareketlilik, adaptif direnci tetikleyebilir [14,116]. *P. aeruginosa*, çevreye göre tepkisini değiştirebilen, yüksek düzeyde uyum sağlayabilen bir bakteridir. *Escherichia coli* (4,6 Mbp, 4279 gen), *Bacillus subtilis* (4,2 Mbp) ve *Mycobacterium tuberculosis* (4,4 Mbp) ile karşılaştırıldığında en büyük bakteri genomlarından birine (6,3 Mbp, 5567 gen kodlayan) sahiptir. Diğer bakteri türleriyle karşılaştırıldığında *P. aeruginosa*'nın sergilediği kapsamlı düzenleyici gen potansiyeli, genetik kapasitede önemli bir fazlalığa işaret etmektedir. Bu fazlalık, *P. aeruginosa*'nın dikkat çekici adaptasyonuna katkıda bulunarak onun antimikrobiyallere ve çeşitli çevresel streslere dayanabilmesini sağlar [117,118].

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma T.C. Sağlık Bakanlığı Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerde tespit edilen *P. aeruginosa* suşlarındaki virülans faktörlerinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

3.1. ARAŞTIRMANIN YAPILDIĞI YER VE TARİHİ

Bu araştırma, Kasım 2023-Mart 2024 tarihleri arasında yapılmış olup, *P. aeruginosa* tür tanımlamaları Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında; virülans testleri Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. ARAŞTIRMA EVREN VE ÖRNEKLEMİ

Araştırma evrenini T.C. Sağlık Bakanlığı Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesine Kasım 2023-Mart 2024 tarihleri arasında başvuran hastalara ait Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilmiş 100 (58 erkek-42 kadın) hastaya ait klinik örneklerde tespit edilen *P. aeruginosa* suşları oluşturmaktadır.

3.3. ARAŞTIRMA İZİNLERİ

Bu çalışma Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 27/3/2023 tarihinde 2023/1284 numaralı kararı ile onaylanmıştır. Çalışma tek merkezli olarak, “İyi Klinik Uygulamalar” yönergesine uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Laboratuvarda yapılan tüm analizlerin uygulanmasında “Kişisel Koruyucu Ekipmanları’na (KKE) dikkat edilerek

alışılmıştır. T.C. Karabük İl Sağlık Müdürlüğü, Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi Başhekimliğinden bilimsel araştırma izni alınmıştır.

3.4. VERİLERİN TOPLANMASI

Araştırma verilerimiz klinik örneklerin (idrar, kulak, ETA, kan, balgam, yara, apse ve BAL) toplanması, klinik örneklerin tür düzeyinde tanımlanması, virülans testlerinin yapımı ve sonuçlarının değerlendirilmesi ile elde edilmiştir. Hastalara ait demografik ve klinik veriler hastane otomasyon sistemi aracılığıyla toplanmıştır.

3.4.1. Klinik rnekler

Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen ve çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan hastalara ait klinik rnekler *P. aeruginosa* pozitifliği bakımından incelenmiş ve pozitiflik tespit edilen örnekler çalışmaya dahil edilerek, ileri testler için işleme alınmıştır.

3.4.2. Laboratuvar Verileri

P. aeruginosa pozitifliği saptanan klinik örneklerden saf kültürler elde edilmiş ve *P. aeruginosa* suşlarında elastaz enzim aktivitesi, alkalın proteaz, katalaz enzimi, hemoliz, motilite, lipaz, piyosiyenin, piyoverdin, seğirme hareket ve mukoid oluşumu gibi virülans faktörleri çalışılmış, sonuçlar kaydedilmiştir.

3.4.3. Demografik ve Klinik Veriler

Çalışmaya dahil edilen hastalara ait yaş, cinsiyet gibi demografik bilgilerin yanı sıra klinik örneğin gönderildiği servis/poliklinik ve klinik bulgulara ilişkin verilere Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Otomasyon Sistemi üzerinden erişilmiş ve çalışma için gerekli bilgiler kaydedilmiştir.

3.5. LABORATUVAR ANALİZLERİ

Bu tez çalışmasına, T.C. Sağlık Bakanlığı Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerde *P. aeruginosa* üremesi tespit edilip herhangi bir tedaviye başlanmayan hastalar dahil edildi. Kasım 2023-Mart 2024 tarihleri arasında çeşitli klinik servis ve yoğun bakım ünitelerinden gönderilen idrar, kulak, ETA, kan, balgam, apse ve BAL örneklerde, herhangi bir hastalık grubu veya örnek türü hariç tutulmadan Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında BD Phoenix Cihazı kullanılarak *P. aeruginosa* pozitifliği yönünden tarandı. *P. aeruginosa* pozitif olan suşlar EMB agara inoküle edildi ve 24 saat inkübasyona bırakılarak saf kültürler elde edildi. *P. aeruginosa* suşlarının virülans faktörleri Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışıldı. Suşlar çalışma boyunca EMB agarda saklandı. Çalışmada 100 adet *P. aeruginosa* izolatu saptanarak, virülans faktörlerinin analizi gerçekleştirildi.

3.5.1. Çalışmada Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması

3.5.1.1. Miller Luria Bertani Agar (Himedia, Hindistan)

37,5 gram besiyeri 1 litre distile suda çözüldü, ısıtıcı manyetik karıştırıcıda tamamen çözünene kadar ısıtıldı. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edildi. Sterilizasyon süresinin sonunda 47-50 °C'ye soğutuldu ve petri kutularına döküldü.

3.5.1.2. Plate Count Skimmed Milk Agar (Merck, Almanya)

20g, 1 besiyeri litre distile su içerisinde çözdürüldü, ısıtıcı manyetik karıştırıcıda tamamen çözünmesi için kaynama noktasına kadar ısıtıldı. Sterilizasyon 121°C sıcaklıkta 15 dakika otoklavlanarak gerçekleştirildi. Sterilizasyon süresinin sonunda 47-50 °C'ye soğutuldu ve petri kutularına döküldü.

3.5.1.3. Brain Heart Infusion Agar (Biolife, İtalya)

52 gram toz besiyeri 1000 ml distile su içerisinde süspanse edildi. Besiyeri tamamen çözünene kadar ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edildi. Sterilizasyon süresinin sonunda 47-50 °C'ye soğumasına izin verildi ve petri kutularına döküldü.

3.5.1.4. Kanlı Agar (Merck, Almanya)

40 gram toz besiyeri 1 litre damıtılmış suda çözüldü. Tamamen çözünmesi için ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda ısıtıldı. 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Sterilizasyon süresinin sonunda 45-50 °C'ye soğumasına izin verildi ve %5 insan kanı aseptik olarak eklendi.

3.5.1.5. Miller Luria Bertani Broth (Himedia, Hindistan)

25 gram besiyeri, 1000 ml distile su içerisinde çözüldü ve ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırıldı, deney tüplerine bölündü. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edildi.

3.5.1.6. Mueller Hinton Agar (Merck, Almanya)

34 gram toz besiyeri 1 litre distile suda çözüldü. Tamamen çözünene kadar ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda ısıtıldı. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edildi. Sterilizasyon süresinin sonunda 47-50 °C'ye soğutuldu ve petri kutularına döküldü.

3.5.1.7. Tributyrin agar (Himedia, Hindistan)

23,0 gram toz besiyeri 990 ml distile suda çözüldü ve 10 ml gliserol ilave edildi. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edildi. Sterilizasyon süresinin sonunda 47-50 °C'ye soğutuldu ve cam petri kutularına döküldü (Şekil 3.1).



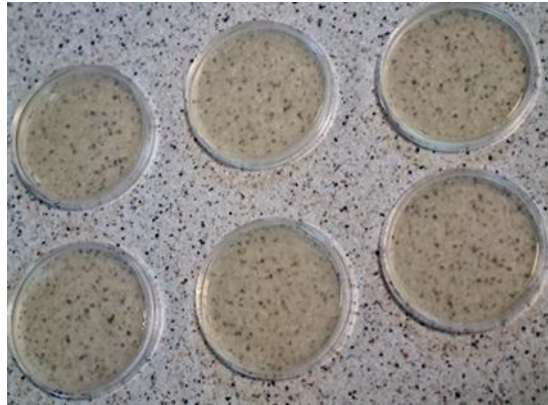
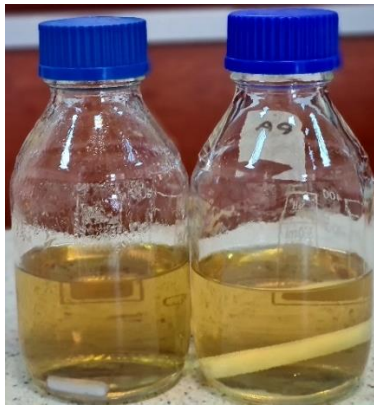
Şekil 3. 1. Cam petri kabında Tributyrin agar.

3.5.1.8. Nutrient agar (Merck, Almanya)

20 gram toz besiyeri 1 litre distile suda çözüldü. Isıticılı manyetik karıştırıcıda tamamen çözünene kadar ısıtıldı. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edildi. Sterilizasyon süresinin sonunda 47-50 °C'ye soğutuldu ve petri kutularına döküldü.

3.5.1.9. Pseudomonas Agar (Himedia, Hindistan)

1000 ml distile suya 46,4 gram toz besiyeri ve 10 ml gliserol ilave edildi. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edildi. Sterilizasyon süresinin sonunda 47-50 °C'ye soğumasına izin verildi ve petri kutularına döküldü (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2. Otoklav sonrası (solda) ve petri kutularında *Pseudomonas* agar (sağda)

3.5.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasalların Hazırlanması

3.5.2.1. Trizma Base, Sigma

0.3634 g 30 mM Tris, 100 ml distile su içerisinde çözündürüldü. pH 7.2 olarak ayarlandı.

3.5.2.2. Elastin Congo Red Sigma

10 gram elastin kongo kırmızısı, Tris solüsyonunda çözöldü ve hidroklorik asit eklenerek pH 7.2'ye ayarlandı.

3.5.2.3. Hydrogen Peroxide

%3'lük çözelti hazırlandı ve cam şişelerde saklandı.

3.5.3. Virölans Faktörlerinin Analizi

P. aeruginosa pozitifliği saptanan klinik örneklerden saf kültürler elde edilmiş ve *P. aeruginosa* suşlarında elastaz enzim aktivitesi, alkalın proteaz, katalaz enzimi, hemoliz, motilite, lipaz, piyosiyenin, piyoverdin, seğirme hareket ve mukoid oluşumu gibi virölans faktörleri çalışılmıştır.

3.5.3.1. Elastaz Aktivitesinin Araştırması

Elastaz aktivitesini araştırmak için Elastin Kongo Kırmızısı ölçüm yöntemi kullanıldı. Klinik suşlar, gece boyunca 37°C'de Luria Bertani sıvı besiyerinde (LBB) inkübe edildi. Elastaz üretimini belirlemek için bakteri süspansiyonları, soğutmalı santrifüjde +4 C'de 3000rpm/10 dakika süreyle döndüröldü ve elde edilen süpernatanın 500 µl'si, 1000 µl 30 mM Tris ve 10 mg Elastin Kongo Kırmızısı (pH: 7.2) içeren eppendorf tüplere ilave edildi. Tüm suşlar ve yalnızca Elastin Kongo Kırmızısı ve Tris içeren bir negatif kontrol, bir çalkalayıcı üzerinde 600 hızda ve 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. Daha sonra tüpler 11600 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve her suş

için üç kuyucuk eklenerek 96 kuyucuklu bir mikroplakaya 200 µl süpernatant eklendi (Şekil 3.3). Sonra spektrofotometre ile 450 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. 0.1'in üzerinde veya ona eşit olan absorbans değerleri pozitif kabul edildi.



Şekil 3.3. Spektrofotometrede ölçüm işlemlerinin yapılması

3.5.3.2. Alkalın Proteaz Aktivitesi

Alkalın proteaz aktivitesinin değerlendirilmesi için Beyin Kalp İnfüzyon (BHI) Agarında %1,5 agar olarak hazırlanan yağsız süt agarı (SMA) kullanıldı. Klinik suşlar gece boyunca Luria Bertani sıvı besiyerinde inkübe edildi, daha sonra hazırlanan bakteri süspansiyonları bir santrifüjde 4°C, 3000 rpm'de 10 dakika süreyle döndürüldü, 20 µl bakteriyel süpernatant, steril bir pipet kullanılarak SMA'da hazırlanan kuyucuklara yerleştirildi. Ortam 25°C'de 18-24 saat süreyle inkübe edildi. Bakterilerin yerleştirildiği yerin çevresinde temiz berrak bölgenin varlığı, pozitif proteaz aktivitesi olarak kabul edildi.

3.5.3.3. Hemoliz

Bakteriler %5 insan kanlı agara ekim yapılarak 37°C'de 24 saatlik inkübasyonun ardından beta hemoliz oluşumu belirlendi. Koloni çevresinde berrak bir zonun oluşması hemoliz açısından pozitif olarak yorumlandı.

3.5.3.4. Hareketlilik Aktivitesi

Hareketlilik testi için suşlar, yarı katı bir Luria Bertani Agarın tabanına bir iğne öze ile batırılarak ekildi. Kùltürler 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Aşıl原因 alandan çevreye doğru büyüme ve sisli bir bölgenin varlığı motilite açısından pozitif olarak kabul edildi.

3.5.3.5. Mukoid Koloni Oluşumu

Mukoid koloni suşunun oluşumunu tespit etmek için klinik örnekler Mueller Hinton Agar'a ekildi ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon periyodundan sonra steril öze kullanılarak mukoid koloniler ve mukus oluşumu araştırıldı.

3.5.3.6. Piyosiyanin

Piyosiyanin pigmentini belirlemek için *P. aeruginosa* suşları *Pseudomonas* agar P üzerine 37°C'de 24-48 saat inoküle edildi. Mavi-yeşilimsi veya mavi renkli kolonilerin görülmesi pozitif kabul edildi.

3.5.3.7. Lipaz Aktivitesi

Lipaz aktivitesini belirlemek için bakteri suşları Tributyrin Agar'a inoküle edildi. 35°C'de 24 saat inkübasyon yapıldı. Koloni etrafında şeffaf zon oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.

3.5.3.8. Seğirme (Twitching) Hareketliliği

Seğirme hareketliliğini belirlemek için bakteri suşları %1 LB Agar plakalarına delik açılarak inoküle edildi ve 35°C'de 18-24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda koloni çapları ölçüldü, 10 mm ve üzeri değerler pozitif sonuç olarak kabul edildi.

3.5.3.9. Katalaz Testi

Bakteri suşları Nutrient Agara inoküle edildi, 24 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi. 24 saatlik üremenin ardından lam üzerine yerleştirilen bakteri izolatının üzerine %3'lük hidrojen peroksit damlatıldı. Hava kabarcıklarının ortaya çıkması katalaz için pozitif olarak kabul edildi.

3.5.3.10 Piyoverdin

Piyoverdin üretimini belirlemek için *Pseudomonas* suşları *Pseudomonas* agar P (King A) üzerine inoküle edildi, ardından 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin ardından UV ışık altında inceleme yapıldı. Floresan yeşil kolonilerin oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.

3.6. İSTATİKSEL ANALİZ

Analizlerde IBM SPSS (Statistical Package for Social Science) 27 programı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ve Excel 2021 kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler, sayısal değişkenler için; ortalama ve standart sapma, kategorik değişkenlerde; frekans olarak verilmiştir. Gruplar arasında sıklık bakımından fark bulunup bulunmadığı, Ki-kare ve Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı. p değerinin 0,05'in altında olduğu değerler anlamlı kabul edildi.

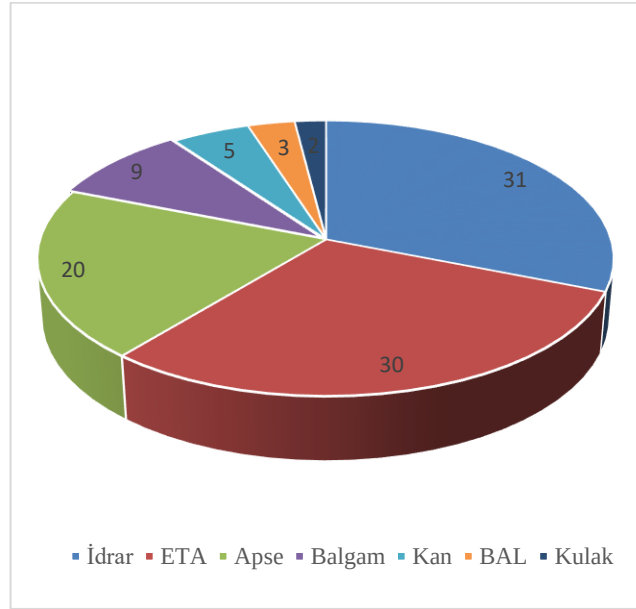
BÖLÜM 4

BULGULAR

Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerinden izole edilen toplam 100 adet *P. aeruginosa* suşu çalışmaya dahil edilmiştir. *P. aeruginosa* suşlarının izole edildiği klinik örneklerin dağılımı Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çalışmada *P. aeruginosa* pozitifliği %31 (31/100) oranında en sık idrar örneklerinde tespit edilirken %30 (30/100) ETA, %20 (20/100) apse, %9 (9/100) balgam, %5 (5/100) kan, %3 (3/100) BAL ve %2 (2/100) kulak örneklerinde izole edilmişlerdir.

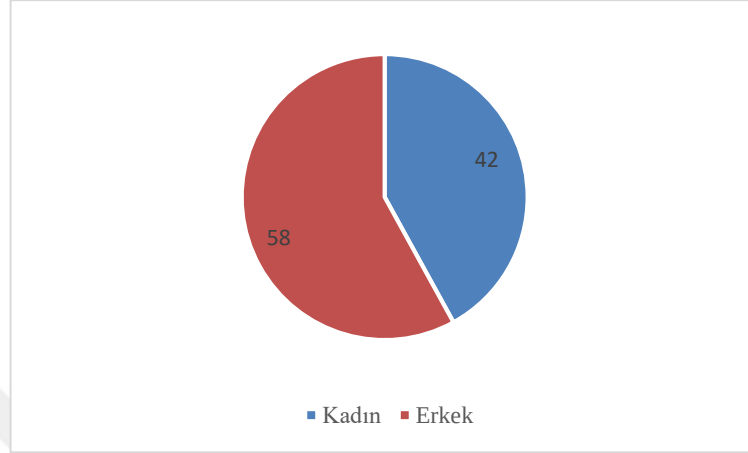
Çizelge 4. 1. İzole edilen *P. aeruginosa* suşlarının klinik örneklere göre dağılımı (%).



Çalışmamıza dahil edilen hastaların cinsiyet dağılımı %42 (42/100) kadın, %58 (58/100) erkek olarak saptanmıştır (Çizelge 4.2). *P. aeruginosa* pozitifliğinin erkek hastalarda daha yüzde olarak daha yüksek olduğu görülmüş ancak *P. aeruginosa*

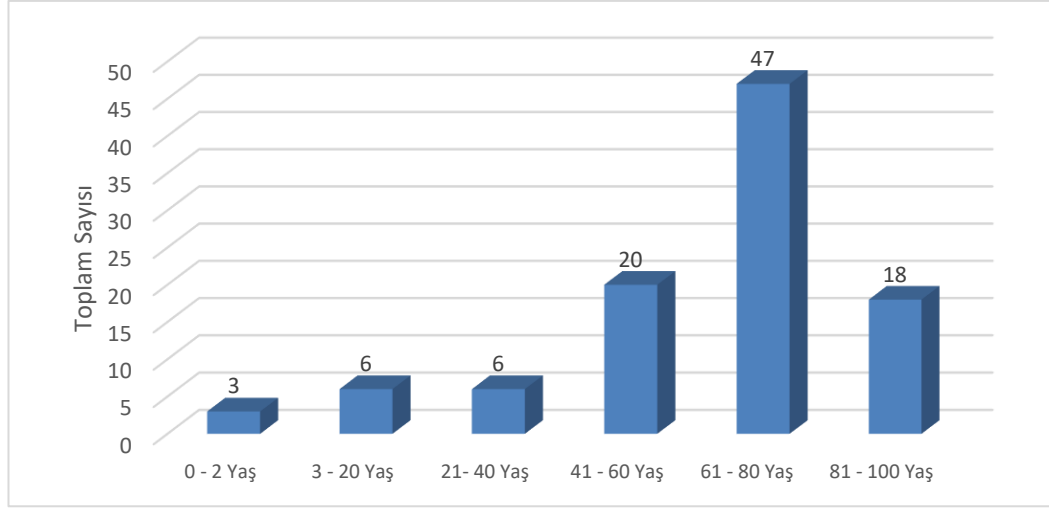
pozitifliği ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4. 2. Çalışmaya dahil edilen örneklerin cinsiyetlere göre dağılımı.



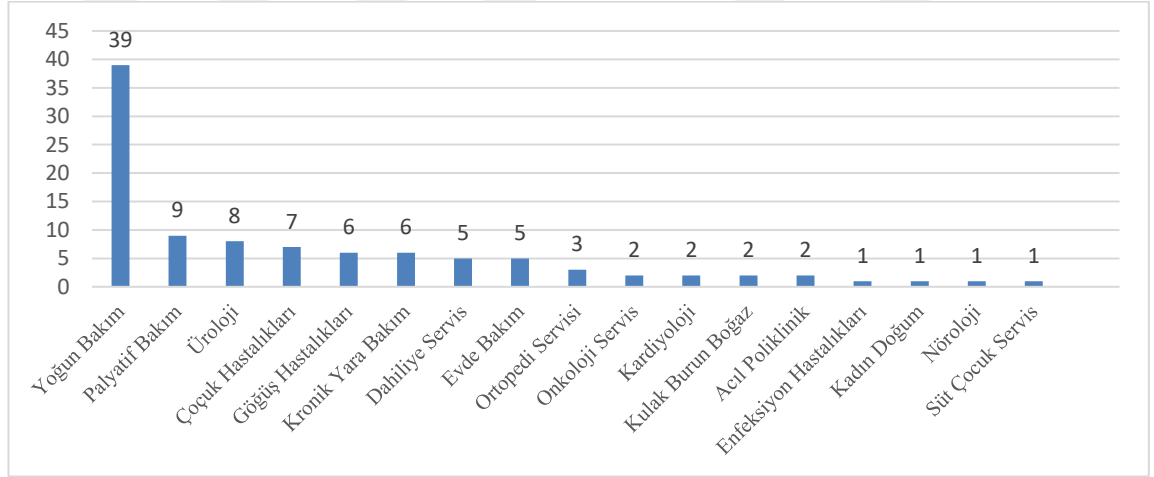
Çalışmaya 0 - 100 yaş grubu dahil edilmiş olup, yaş 0-2; 3-20; 21-40; 41-60; 61-80 ve 81-100 olarak altı grupta incelenmiş olup en sık görülen yaş grubu 61-80 (47/100) yaş arası olarak tespit edilmiştir. Diğer yaş gruplarının dağılımı 41-60 yaş %20, 81-100 yaş %18, 21-40 yaş %6, 3-20 yaş %6 ve 0-2 yaş %3 şeklinde saptanmıştır. Yaş grubunun dağılımı Çizelge 4.3'de gösterilmektedir. Çalışmaya dahil edilen, klinik örneklerinde *P. aeruginosa* üremesi tespit edilmiş hastaların %65'inin (81/100) 60 yaş üzeri olduğu görülmüş; yaş ile (>60yaş) *P. aeruginosa* pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4. 3. Çalışmaya dahil edilen örneklerin yaş gruplarının dağılımı.

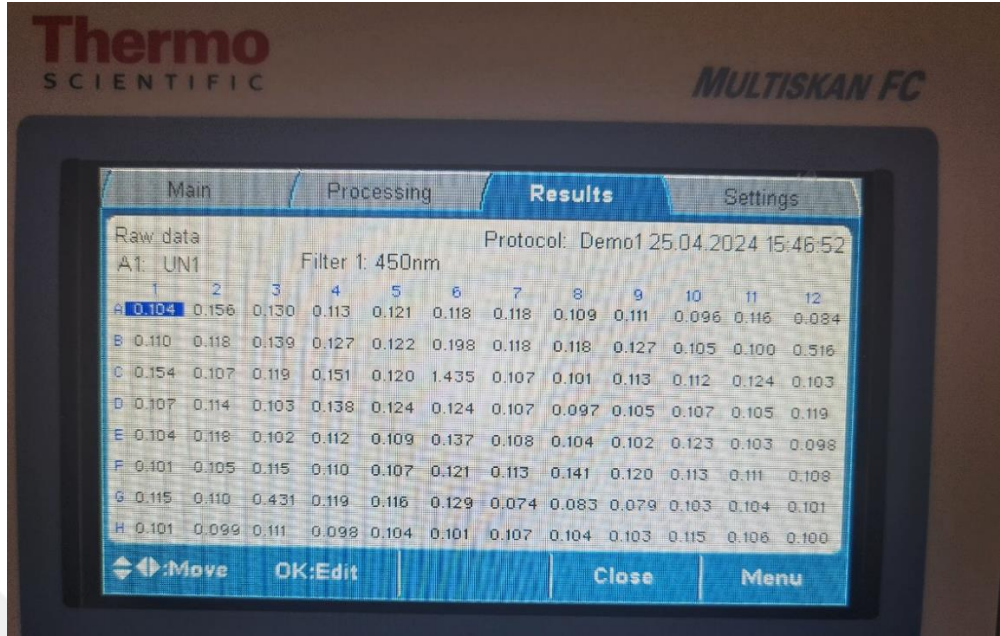


Çalışmaya dahil edilen klinik örneklerin gönderildiği çeşitli klinik servis ve yoğun bakım ünitelerindeki dağılımı incelendiğinde izolatların %39 (39/100) oran ile en yüksek yoğun bakım ünitelerinden gönderildiği tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen örneklerin geldiği klinik birimlerin dağılımı Çizelge 4.4’de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 4. Çalışmaya dahil edilen örneklerin geldiği klinik birimlerin dağılımı.



Çalışmaya dahil edilen 100 *P. aeruginosa* suşunun 76'sında elastaz testi pozitif olarak saptanarak elastaz pozitifliği %76 olarak tespit edilmiştir. İdrar örneklerinin %67,7'sinde (21/31), ETA örneğinin %66,7'sinde (20/30), apse örneğinin %85'inde (17/20), balgam örneğinin %88,9'unda (8/9), kan (5/5), BAL (3/3) ve kulak örneğinin tamamında (2/2) elastaz pozitifliği saptanmıştır. Elastaz aktivitesinin spektrofotometre sonuçlarının görüntüsüne Şekil 4.1’de yer verilmektedir.



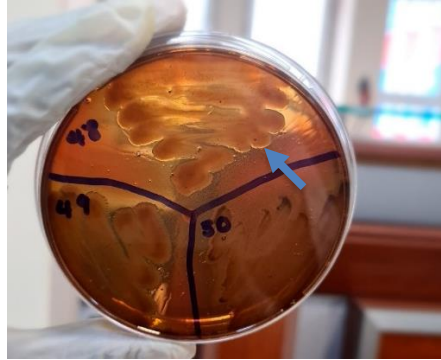
Şekil 4. 1. Elastaz aktivitesinin spektrofotometre sonuçlarını görüntüsü.

Çalışmaya dahil edilen 100 *P. aeruginosa* suşunun 56'sısında proteaz testi pozitif saptanmıştır. İdrar örneklerinin %64,5'inde (20/31), ETA örneğinin %60'ında (18/30), apse örneğinin %50'sinde (10/20), balgam örneğinin %44,4'ünde (4/9), kan örneklerinin %60'ında (3/5) ve BAL örneklerinin %33,3'ünde (1/3) proteaz testi pozitif olarak saptanırken kulak örneklerinde pozitiflik tespit edilmemiştir. Pozitif değerlendirme görüntüsü Şekil 4.2'de verilmektedir.



Şekil 4. 2. Alkalın proteaz aktivitesi pozitif sonucu görüntüsü.

Çalışmaya dahil edilen 100 *P. aeruginosa* suşunun 87'sinde hemoliz testi pozitif saptanmıştır. İdrar örneklerinin %80,6'sında (25/31), ETA örneğinin %90'ında (27/30), apse örneklerinin %95'inde (19/20), balgam örneklerinin %77,8'inde (7/9), kan örneklerinin %80'inde (4/5) ve BAL örnekleri (3/3) ve kulak örneklerinin (2/2) tamamında pozitiflik tespit edilerek, Şekil 4.3'de pozitiflik görüntüsü verilmektedir.



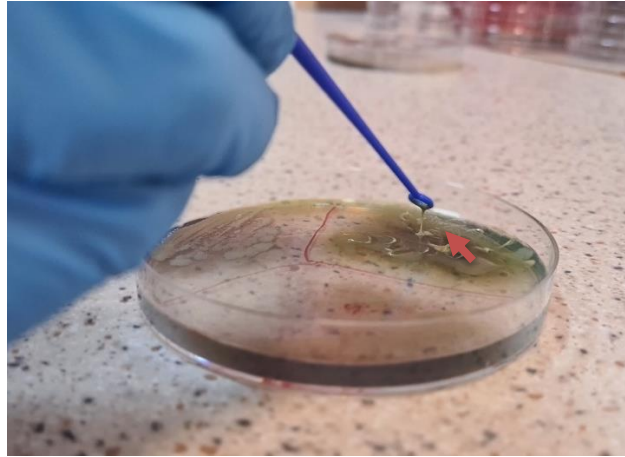
Şekil 4. 3. Beta hemoliz pozitif sonucu

Çalışmaya dahil edilen 100 *P. aeruginosa* suşunun 92'sinde hareketlilik testi pozitif saptanmıştır. İdrar örneklerinin %96,8'inde (30/31), ETA örneğinin %96,7'sinde (29/30), apse örneklerinin %90'ında (18/20), balgam örneklerinin %66,7'sinde (6/9), kulak örneklerinin %50'sinde (1/2) kan örneklerinin (5/5) ve BAL örneklerinin (3/3) tamamında pozitiflik tespit edilerek, Şekil 4.4'de pozitiflik görüntüsü verilmektedir.



Şekil 4. 4. Hareket için pozitif sonuçları

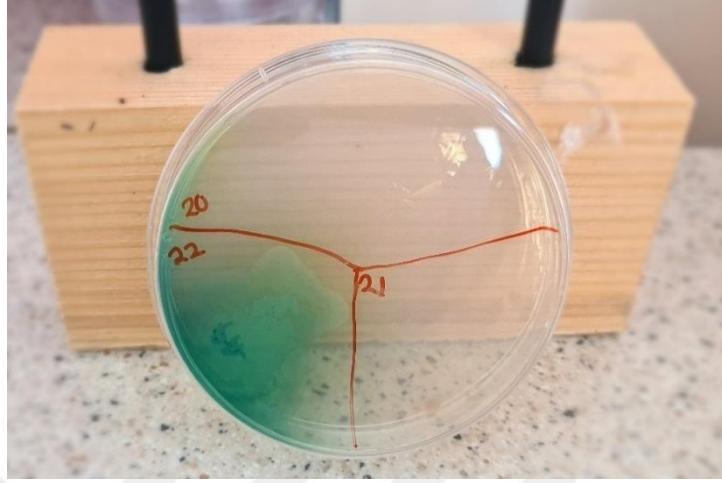
Çalışmaya dahil edilen 100 *P. aeruginosa* suşunun 79'unda mukoid oluşumu pozitif bulunmuştur. İdrar örneklerinin %80,6'tısında (25/31), ETA örneğinin %76,7'sinde (23/30), apse örneklerinin %65'inde (13/20), kan örneklerinin %80'inde(4/5), BAL örneklerinin (3/3), balgam örneklerinin (9/9) ve kulak örneklerinin (2/2) tamamında pozitiflik tespit edilerek, Şekil 4.5'de pozitiflik görüntüsü verilmektedir.



Şekil 4. 5. Mukoid fenotip pozitiflik sonucu

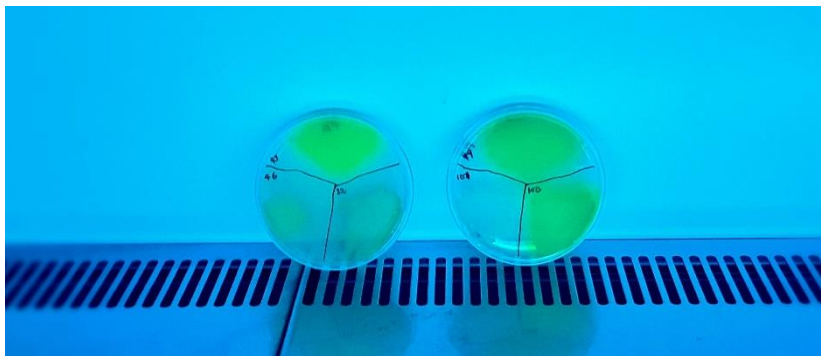
Çalışmaya dahil edilen 100 *P. aeruginosa* suşunun 60'sinde piyosiyanin testi pozitif saptanmıştır. İdrar örneklerinin %61,3'ünde (19/31), ETA örneğinin %50'sinde (15/30), apse örneklerinin %80'inde (16/20), balgam örneklerinin %55,6'tısında (5/9), kan örneklerinin %80'inde (4/5) ve BAL örneklerinin %33,3'ünde (1/3) pozitiflik

tespit edilerek, kulak örnekleri negatif olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.6'da pozitiflik görüntüsü verilmektedir.



Şekil 4. 6. Piyosiyanin pozitif sonucu

Çalışmaya dahil edilen 100 *P. aeruginosa* suşunun 86'tısında pyoverdinin testi pozitif saptanmıştır. İdrar örneklerinin %80,6'tısında (25/31), ETA örneğinin %90'ında (27/30), apse örneklerinin %90'ında (18/20), balgam örneklerinin %77,8'inde (7/9), BAL örneklerinin %66,7'sinde (2/3), kan örneklerinin (5/5) ve kulak örneklerinin (2/2) tamamında pozitiflik tespit edilerek, Şekil 4.7'de pozitiflik görüntüsü verilmektedir.



Şekil 4. 7. UV ışıkları altında piyoverdine pozitif sonuçlar

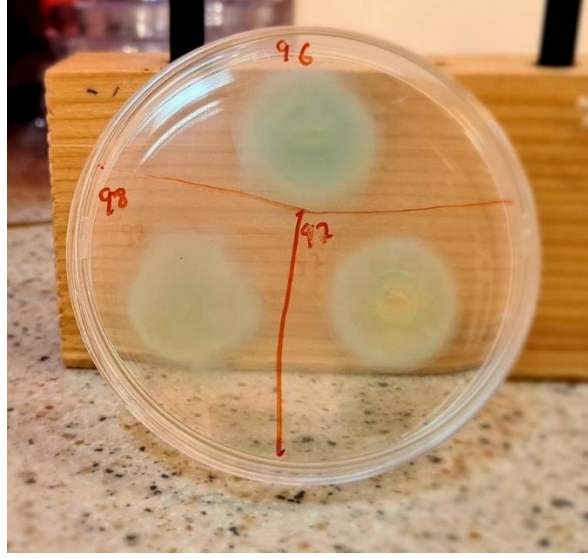
Çalışmaya dahil edilen 100 *P. aeruginosa* suşunun 58'inde lipaz testi pozitif saptanmıştır. İdrar örneklerinin %54,8'inde (17/31), ETA örneğinin %53,3'ünde (16/30), apse örneklerinin %75'inde (15/20), balgam örneklerinin %77,8'inde (7/9),

BAL örneklerinin %33,3'ünde (1/3), kan örneklerinin %20'sinde (1/5) ve kulak örneklerinin %50'sinde (1/2) pozitiflik tespit edilerek, Şekil 4.8'de pozitiflik görüntüsü verilmektedir.



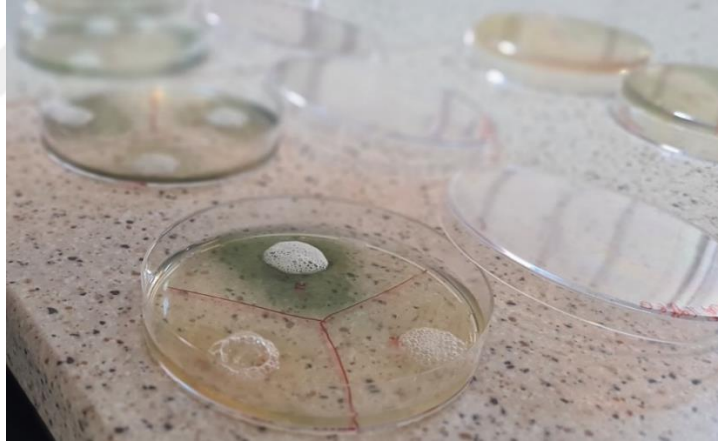
Şekil 4. 8. Lipaz pozitif sonucu

Çalışmaya dahil edilen 100 *P. aeruginosa* suşunun 82'sinde seğirme testi pozitif saptanmıştır. İdrar örneklerinin %80,6'sında (25/31), ETA örneğinin %88,3'ünde (25/30), apse örneklerinin %95'inde (19/20), balgam örneklerinin %77,8'inde (7/9), BAL örneklerinin %66,7'sinde (2/3), kan örneklerinin %80'inde (4/5) pozitiflik saptanarak, kulak örneklerinde pozitiflik tespit edilmemiştir. Şekil 4.9'da pozitiflik görüntüsü verilmektedir.



Şekil 4. 9. Seğirme hareket pozitif sonucu

100 suşun tamamı katalaz testi açısından pozitif olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.10'da pozitiflik görüntüsü verilmektedir.



Şekil 4.10. Katalaz pozitif sonucu

Çalışmaya dahil edilen 100 *P. aeruginosa* suşunun 76'sı (%76) elastaz, 56'sı (%56) proteaz, 87'si (%87) hemoliz, 92'si (%92) motilite, 79'u (%79) mukoid, 60'ı (%60) piyosiyenin, 86'sı (%86) piyoverdin, 58'i (%58) lipaz, 82'si (%82) seğirme ve 100'ü (%100) katalaz pozitifdir. Kulaktan izole edilen tüm suşlarda proteaz, piyosiyenin ve seğirme testleri negatif çıkarken, diğer virülans faktörleri tüm örneklerde tespit edildi. İzolatların tamamında katalazın yüksek oranda bulunduğu, izolatların hepsinde en az

bulunan virülans faktörünün alkalın proteaz ve lipaz olduğu belirlendi. Çalışmamızda virülans testlerinin sonuçları Çizelge 4.5'te belirtilmiştir.

Çizelge 4. 5. *P. aeruginosa* suşlarının izole edildikleri bölgelere göre sahip oldukları virülans faktörlerinin dağılımı

VİRÜLANS FAKTÖRLERİ	İDRAR (n=31)	ETA (n=30)	APSE (n=20)	BALGAM (n=9)	KAN (n=5)	BAL (n=3)	KULAK (n=2)	TOPLAM (n=100)
Elastaz	21 %67,7	20 %66,6	17 %85	8 %88,8	5 %100	3 %100	2 %100	76 %76
Proteaz	20 %64,5	18 %60	10 %50	4 %44,4	3 %60	1 %33,3	0	56 %56
Hemoliz	25 %80,6	27 %90	19 %95	7 %77,7	4 %80	3 %100	2 %100	87 %87
Hareket	30 %96,7	29 %96,6	18 %90	6 %66,6	5 %100	3 %100	1 %50	92 %92
Mukoid	25 %80,6	23 %76,6	13 %65	9 %100	4 %80	3 %100	2 %100	79 %79
Piyosiyenin	19 %61,2	15 %50	16 %80	5 %55,5	4 %80	1 %33,3	0	60 %60
Piyoverdin	25 %80,6	27 %90	18 %90	7 %77,7	5 %100	2 %66,6	2 %100	86 %86
Lipaz	17 %54,8	16 %53,3	15 %75	7 %77,7	1 %20	1 %33,3	1 %50	58 %58
Twitching	25 %80,6	25 %83,3	19 %95	7 %77,7	4 %80	2 %66	0	82 %82
Katalaz	31 %100	30 100%	20 %100	9 %100	5 %100	3 %100	2 %100	100 %100

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

P. aeruginosa, özellikle hastanede yatan ve bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde zorlu infeksiyonlara neden olduğu bilinen ve sıklıkla yüksek ölüm oranlarına yol açan bir patojendir. *P. aeruginosa* insan vücudu, hayvanlar ve doğal çevre dahil olmak üzere çeşitli ortamlarda bulunur. Geniş yaşam alanı, hastane ortamlarında yayılmasının kontrol edilmesinde ve kontaminasyonun önlenmesinde zorluklara yol açmaktadır. *P. aeruginosa*'nın dayanıklılığı, antibiyotiklere karşı doğal direnci ve zaman içinde birden fazla direnç mekanizması geliştirme kapasitesi ile daha da güçlenmektedir. *P. aeruginosa*'nın klinik önemini arttıran faktörlerden biri de bakterinin konakçıya tutunmasında, istilasında, konakçı immün tepkisinden kaçmasında ve antibiyotiklerin etkisinde rol oynayan virülans faktörlerini salgılayabilmesidir. Bu virülans faktörleri flagella, pili, lipopolisakkarit ve aljinat gibi bakteriyel yüzeyle ilgili bir dizi elementin yanı sıra pigment üretimi, hemoliz, proteaz, elastaz, lipaz, ramnolipid, ekzotoksin A, ekzoenzim S, biyofilm üretimi ve hareket yeteneğidir. Bu faktörler tek başına veya kombinasyon halinde hücre ölümüne, ciddi doku hasarına ve konakçıda nekroza katkıda bulunur [8]. Araştırmalar, *P. aeruginosa*'daki virülans faktörlerinin, bakterinin izole edildiği kaynağa bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Örneğin, idrar yolu infeksiyonlarından elde edilen suşların, akciğer ve yara infeksiyonlarından izole edilen suşlarla karşılaştırıldığında daha yüksek seviyelerde ekzoenzim S aktivitesi ve fosfolipaz C sergilediği, buna karşın daha düşük elastaz aktivitesi gösterdiği bulunmuştur [119].

Çalışmamızda *P. aeruginosa* için önemli virülans faktörleri olan elastaz enzim aktivitesi, alkalın proteaz, katalaz enzimi, hemoliz, motilite, lipaz, piyosiyenin, piyoverdin, seğirme hareket ve mukoid oluşumu değerlendirildi.

Çalışmaya toplam 100 *P. aeruginosa* izolatu dahil edildi. Örneklerin 41'i kadın hastalardan, 59'u ise erkek hastalardan oluşmaktadır. Yapılan çalışmalar, farklı bölgelerdeki erkekler ve kadınlar arasında *P. aeruginosa* infeksiyonlarının dağılımında farklılıklar olabileceğini göstermiştir. Bibi ve ark., tarafından Pakistan'da yapılan bir araştırma, kadınların (%54) infeksiyon riskinin erkeklere (%45) göre daha yüksek olduğunu bildirmiştir [120]. Benzer şekilde Birleşik Krallık'ta Read ve ark., tarafından yapılan bir çalışma kadınların (%52) erkeklerden (%48) daha fazla oranda *P. aeruginosa* infeksiyonlarından etkilendiğini göstermiştir [121]. Özkan ve ark., erkeklerin (%59) kadınlara (%40) göre daha yüksek enfeksiyon oranına sahip olduğunu belirtmiştir [122]. Ali ve ark., tarafından Pakistan'da yapılan başka bir çalışmada ise erkeklerde infeksiyonun (%60) kadınlara (%40) göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir [123]. Shahri ve ark., tarafından Kuzey İran'da yapılan bir çalışmada, erkeklerin (%51.5) kadınlara (%48.5) kıyasla *P. aeruginosa* ile daha fazla enfekte olduğu gözlemlenmiştir [124]. Çalışmamızda da infeksiyon oranı erkeklerde (%58) kadınlara (%42) göre daha yüksek bulunmuş ancak cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiş olup her iki cinsiyette mantar saptanması açısından potansiyel risk altındadır.

P. aeruginosa infeksiyonları tüm yaş gruplarını etkilemekle birlikte sıklıkla geriatrik popülasyonda daha yüksek oranda görülmektedir. Maçin ve ark., 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada *P. aeruginosa* ile enfekte olan en genç hastanın bir yaşında, en yaşlısının ise 92 yaşında olduğunu belirtmişlerdir [125]. Klinik *P. aeruginosa* izolatlarının virülans faktörlerini ve antibiyotik direnç paternlerini belirlemek için yapılan başka bir çalışmada ise *P. aeruginosa* pozitifliğinin en sık görüldüğü yaş grubunun 46-60 (%38) arasında olduğu bildirilmiştir [126]. Venezuela'daki bir üniversite hastanesinde nozokomiyal *P. aeruginosa* suşlarının virülans faktörlerini araştırmak için yapılan bir çalışmada, izole edilen 176 *P. aeruginosa* suşunun 93'ünün 10-60 yaş arası hastalardan, 34'ünün ise 60 yaş üstü hastalardan tespit edildiği gözlemlenmiştir [127]. İran'da *P. aeruginosa* klinik izolatlarının virülans faktörlerini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada, farklı hastanelerden 97 *P. aeruginosa* izolatu toplanmış ve en sık görülen yaş grubunun 55 yaş üstü olduğu bildirilmiştir [124]. Çalışmamızda literatürü destekler şekilde en genç hasta bir yaşın altında, en yaşlı hastanın ise 98 yaşında olduğu ve klinik örneklerinde *P. aeruginosa* üremesi

tespit edilmiş hastaların %65'inin (81/100) 60 yaş üzeri olduğu görülmüş; yaş ile (>60yaş) *P. aeruginosa* pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). *P. aeruginosa* başta geriatrik hastalar olmak üzere her yaştan insanı etkilemektedir ve yaş artışına paralel olarak *P. aeruginosa* infeksiyonlarının da arttığı düşünülmektedir. Özellikle geriatrik olgularda *P. aeruginosa* infeksiyonlarının göz önüne alınması önerilmektedir.

Tüm dünyada *P. aeruginosa* infeksiyonları üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Jones ve ark., bir yıllık bir süre boyunca 307 *P. aeruginosa* izolatını toplamış ve en fazla sayıda izolatın (106) yoğun bakım ünitesinden elde edildiğini ortaya koymuştur [128]. Özer ve ark.,'nın bir çalışmasında *P. aeruginosa* izolatlarının %68,8'inin yoğun bakım ünitelerinden kaynaklandığı tespit edilmiştir [129]. Başka bir çalışmada Özdemir ve ark., yoğun bakım ünitelerinden izole edilen bakterilerin %79'unun *P. aeruginosa* olduğunu bildirmişlerdir [130]. Samad ve ark., 17 Avrupa ülkesindeki 1417 yoğun bakım ünitesinden alınan *P. aeruginosa* izolatlarını içeren Avrupa Yoğun Bakımda Enfeksiyon Prevalansı (EPIC) çalışmasında *P. aeruginosa*'yı en sık izole edilen bakteri olarak tanımlanmıştır [131]. Benzer şekilde Harris ve ark., yoğun bakım ünitelerindeki 1840 hastanın 213'ünde *P. aeruginosa*'nın kolonize olduğunu bulmuşlardır [132].

Çalışmamızda da literatürle uyumlu şekilde *P. aeruginosa* pozitifliğinin en sık saptandığı klinik birimin yoğun bakım (%39) olduğu görülmüştür. Bu durumun, patojenin yoğun bakım üniteleri gibi bağışıklık sistemi baskılanmış hastaların bulunduğu ortamlara kolayca yerleşmesini sağlayan fırsatçı doğası olduğu düşünülmüştür.

P. aeruginosa suşlarında virülans faktörlerinin araştırılması amacıyla Erciyes Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada izolatların 34'ünün (%25) kan örneklerinden, 29'unun (%21) ETA örneklerinden ve 25'inin (%18) yara örneklerinden izole edildiği bildirilmiştir [133]. Anadolu Üniversitesi'nde yapılan bir araştırmada izolatların çoğunun balgam örneklerinden (%29), ardından idrar örneklerinden (%28) ve üçüncü sırada ise trakeal aspirat örneklerinden (%20) oluştuğu gözlenmiş ve en az izolat örneği ise kan örnekleri (%5) olmuştur [134]. Selçuk Üniversitesi'nde yapılan bir

başka araştırmada ise en sık görülen örneklerin idrar (%30) olduğu, bunu yara örneklerinin (%16) ve BAL'ın (%15) takip ettiği bildirilmiştir [135]. Mısır'daki Al-Azhar Üniversitesi'ndeki *P. aeruginosa* klinik izolatlarında fenotipik virülans özellikleri ile antibiyotik direnci arasındaki ilişkiyi gözlemek amacıyla yapılan çalışmada izolatların çoğunun idrar (%39) ve balgam örnekleri (%35) olduğu bildirilmiştir [136]. Çalışmamızda en sık idrar örneği (%31) alınmış, bunu ETA (%30) ve üçüncü sırada da apse örneği (%20) izlemiştir. En az izole edilen klinik örneğin ise kulak örnekleri olduğu (%2) tespit edilmiştir.

Çeşitli çalışmalar virülans faktörleri ile *P. aeruginosa*'nın izole edildiği vücut kısımları arasındaki ilişkiyi incelemiş ve *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının patogenezi aydınlatmaya çalışmıştır. Çıragil ve ark., yaptığı çalışmada vücudun çeşitli kısımlarından izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının elastaz, proteaz ve aljinat özellikleri incelenmiştir. Alt solunum yolu izolatlarının %61'inde alkalın proteaz varlığını, %73'ünde ise elastaz pozitifliğini bulmuşlardır [137]. Maçin ve ark. yapılan bir çalışmada alt solunum yolu örneklerinden izole edilen suşlarda elastaz üretimi %77,7 olarak belirlenmiş ve izolatların toplamında en fazla (%73,6) elastaz pozitif bulunmuştur [125]. Karatuna ve ark., *P. aeruginosa*'nın neden olduğu akciğer patogenezi elastaz üretiminde artış olduğunu, solunum yolu örneklerinden alınan *P. aeruginosa* izolatlarında %76 oranında elastaz üretim oranı olduğunu bildirmiştir [138]. Ayrıca Schaber ve ark., çeşitli enfeksiyonlardan elde edilen 200 *P. aeruginosa* izolatında elastaz oluşumunu araştırmış ve yalnızca 5 izolatın elastaz üretmediğini tespit etmiştir [139]. Çalışmamızda proteazın (%56) en düşük virülans faktörü olduğunu ve alt solunum yollarının %54,6'sında pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Katalaz, *P. aeruginosa*'nın en önemli virülans faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir çünkü katalaz virülans faktörlerinin ekspresyonu ve biyofilmlerin hidrojen peroksit karşı korunması için gereklidir [140]. Domínguez-Bello ve ark., 2000 yılında gastrit izolatları ile yaptığı çalışmada tüm izolatlarda katalaz pozitifliğinin (%100) görüldüğünü bildirmiştir [141]. Çalışmamızda da literatürle uyumlu şekilde tüm izolatlar katalaz pozitif tespit edilmiştir.

P. aeruginosa üç tip hareket gösterir. Flagella yardımıyla yüzme hareketi, tip IV pilus yardımıyla seğirme hareketi ve ramnolipid yardımıyla kaynaşma hareketi gösterir. Bu hareketlilik özelliği bakteriyel yapışma ve kolonizasyon için gereklidir [142]. Düzgün ve ark.,'nın *P. aeruginosa*'nın izole edildiği kaynağa göre hareketliliğinin incelendiği bir çalışmada, idrardan izole edilen suşların diğer örnek izolatlarına göre anlamlı derecede daha yüksek yüzme hareketliliği gösterdiği; trakeal aspirat izolatlarının da kan izolatlarına göre önemli ölçüde daha yüksek yüzme hareketliliği gösterdiği; yara izolatlarında görülen seğirme hareketinin idrar, kan ve kateter izolatlarına göre daha az olduğu belirlenmiştir [143]. Atciyurt ve ark.,'nın yaptığı başka bir çalışmada ise tüm suşlarda hareketliliğin pozitif olduğu; *P. aeruginosa* suşlarının %93'ünün yüzme hareketi ve %82'sinin seğirme hareketi gösterdiği belirlenmiştir [133]. Rodulfo ve ark.,'nın çoklu ilaca dirençli 176 *P. aeruginosa* izolatıyla ilişkili virülans faktörlerini değerlendirdiği bir çalışmada izolatların %72,7'sinin motilite, %40,3'ünün ise seğirme hareketi açısından pozitif olduğu gözlemlenmiştir [127]. Bizim çalışmamızda %92 oranında *P. aeruginosa* suşları hareket açısından pozitif sonuç verdi ve %82'si seğirme hareketi açısından pozitif olarak tespit edildi. İdrar ve ETA örneklerinden tespit edilen *P. aeruginosa* suşlarında hareketlilik sırasıyla %96,7 ve %96,6; kan örneklerinde ise %100 olarak tespit edilmiştir. Kan örneklerinin hareketliliği ETA örneği izolatlarından daha yüksekti. Apseden elde edilen seğirme hareketi izolatları %95 daha yüksek sonuçlar gösterdi, bunu %83 ETA numuneleri izledi, ardından idrar ve kan %80 ile aynı sonuçları verdi.

S ve ark., irin, idrar ve balgam klinik izolatlarında virülans faktörlerinin dağılımını inceleyen bir çalışmada *P. aeruginosa* suşlarının %80,3'ünün beta-hemoliz açısından pozitif olduğunu ve en yüksek oranın %88 ile idrar izolatlarında pozitif olduğunu gözlemlemişlerdir [144]. Prasad ve ark., *P. aeruginosa*'nın virülans özelliklerinin prevalansı ve karakterizasyonu üzerine klinik örneklerden ve hastane ortamından yaptıkları çalışmada, izolatların %86'sının hemoliz özelliği gösterdiğini, idrar izolatlarının %100'ünün hemoliz pozitif olduğunu bildirmişlerdir [145]. Maçın ve ark., tüm klinik izolatlarda %79,5 ve idrar izolatlarında ise %86,4 hemoliz pozitifliği olduğunu bildirmişlerdir [125]. Çalışmamızda hemolizin tüm örneklerde yüksek pozitif sonuçlar gösterdiğini gözlemledik. Sonuçlar incelenen tüm klinik izolatlar arasında %87, idrar izolatlarında ise %80,6 idi. *P. aeruginosa* suşlarındaki beta-

hemolizin, enfeksiyonun yayılmasında ve yaraların genişlemesinde önemli bir rol oynamaktadır, çünkü bu enzimler *Pseudomonas*'ın ökaryotik hücrelere istilasını kolaylaştırarak bakterileri konağın savunma mekanizmalarından ve antimikrobiyal tedaviden korumaktadırlar [141].

Mukoid fenotip, bazı patojenlerin solunum yolu enfeksiyonu sırasında geçirdiği adaptasyonlardan biridir. *P. aeruginosa*'daki mukoid koloni morfolojisi çoğunlukla aljinatın aşırı üretiminden kaynaklanır. Aljinatın aşırı üretiminin kistik fibrozis akciğerinde hücre yapışmasında rol oynadığına inanılmaktadır ve aynı zamanda fagositoza duyarlılığı azaltarak konakçı savunmalarına karşı dirençte de rol oynadığı düşünülmektedir [142]. Ghadaksaz ve ark., 104 *P. aeruginosa* klinik izolatında aljinat üretimini araştırmışlar, izolatların %89,4'ünün aljinat üretimi açısından pozitif olduğunu gözlemlerken, en yüksek pozitif sonuçların idrar (%100) ve balgam (%100) izolatlarında gözlemlendiğini bildirmişlerdir [146]. Maçin ve ark., çeşitli klinik örneklerden izole edilen 258 *P. aeruginosa* suşunun virülansını araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, sadece 53 (%20,5) suşun mukus üretimi açısından pozitif olduğunu gözlemlemişlerdir [125]. Aynı çalışmada tüm klinik örneklerde mukus varlığı düşük oranlarda bulunurken, en yüksek mukoid fenotipi kan (%30,4) ve balgam (%25,8) örneklerinde tespit edilmiştir [125]. Çalışmamızda en yüksek mukoid fenotipi balgam, BAL ve kulak örneklerinde (%100) tespit edilmiştir. Tüm klinik numunelerden elde edilen genel sonuçlar ise %79 olarak saptanmıştır. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar, aljinatın kistik fibrozis akciğerlerinde adezyonda rol oynaması ile ilgili olduğu düşünülmüştür.

Piyosiyenin, hücre dışı DNA'ya bağlanarak *P. aeruginosa*'nın fiziksel ve kimyasal etkileşimlerini ve yüzey özelliklerini etkileyerek hücreden hücreye etkileşimi artırabilmektedir. Piyosiyenin hücre dışı DNA'yı teşvik ederek biyofilm oluşumuna yardımcı olabileceği de öne sürülmüştür [147]. Piyosiyenin, *P. aeruginosa* için en önemli virülans faktörlerinden biri olarak kabul edilir ve suşlarının %90'ından fazlası tarafından üretildiği düşünülmektedir [143]. Al Dawodeyah ve ark., solunum izolatları ile yapılan bir çalışmada izolatların %87'sinde piyosiyenin üretimi tespit edilmiştir [144]. Al Marjin ve ark., Irak'ta yanık enfeksiyonlarından izole edilen *P. aeruginosa*'da piyosiyenin ve biyofilm oluşumunun araştırıldığı bir çalışmada, 63 örnekten 40'ının

(%63,5) piyosiyenin üretimi açısından pozitif olduğunu bildirmiştir [148]. Erciyes Üniversitesi'nde yoğun bakım ünitesi ve poliklinikten alınan *P. aeruginosa* izolatları ile yapılan başka bir çalışmada ise 137 izolattan 85'inin (%62) piyosiyenin açısından pozitif olduğu ve en yüksek pozitif sonuçları balgam izolatlarının (%86) verdiği tespit edilmiştir [133]. Çalışmamızda literatürle uyumlu şekilde klinik izolatların %60'ında piyosiyenin tespit edilmiş olup en yüksek oran (%80) apse ve kan örneklerinde görülmüştür.

Piyoverdin, *P. aeruginosa* tarafından üretilen bir siderofordur. Piyoverdinler özellikle *P. aeruginosa* dahil floresanslı *Pseudomonas* türlerinin tipik bir özelliğidir ve düşük demir koşulları altında üretilirler [34]. Piyoverdin, hastalığın patojenitesi ve bunun akciğerlerde birikmesi ve kistik fibrozis hastalarında artan mortalite ile ilişkili olduğunu gösterilen önemli bir virülans faktörüdür [145]. Hamza ve ark., 10 adet çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa* izolatu üzerinde yaptıkları bir çalışmada, izolatların %100'ünde piyoverdin üretimi gözlemlenmiştir [149]. Özkan ve ark., servis ve yoğun bakım ünitelerinde saptanan *P. aeruginosa* izolatları ile yaptığı bir çalışmada piyoverdin pozitifliği sırasıyla %86,7 ve %86,2 olarak bulunmuştur [122]. Alonso ve ark., ventilatörle ilişkili pnömoniye neden olan *P. aeruginosa* suşlarının piyoverdin üretimini araştırmış ve toplam 90 adet *P. aeruginosa* suşunun %74,4'ünün piyoverdin ürettiğini bildirmişlerdir [150]. Atcıyurt ve ark., *P. aeruginosa*'nın piyoverdin üretimini 137 farklı klinik izolatta araştırmış ve izolatların %83'ünün piyoverdin üretimi açısından pozitif olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada idrar izolatlarında (%100) ve yara izolatlarında (%96) daha yüksek piyoverdin üretimi sonuçları görülürken, en düşük üretimin balgam izolatlarında (%57) gözlemlendiği bildirilmiştir [133]. Bizim çalışmamızda tüm klinik izolatlarda toplam %86 oranında piyoverdin tespit edilmiştir. Kan (%100) ve kulak (%100) izolatlarında en yüksek piyoverdin üretimi görülmüş; ETA (%90) ve apse (%90) izolatlarında da yüksek piyoverdin üretimi görülürken, en düşük üretim BAL (%66,6) izolatlarında gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, piyoverdinin *P. aeruginosa*'nın klinik izolatlarında yaygın bir virülans faktörü olduğunu ve patojenitesinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Lipaz, *P. aeruginosa*'nın tip II salgı sistemi aracılığıyla salgılanan bir enzim olup, akciğer dokularında ve ayrıca konak hücre zarlarında ciddi hasara neden olabilir [8].

Khalil ve ark., yaptığı çalışmada, *P. aeruginosa* izolatlarının %84'ünde lipaz pozitif olduğu, en yüksek tespit oranının kanda (%100) ve kateter ucu izolatlarında (%100) ve en düşük oranın kulak izolatlarında (%75) olduğu belirtilmiştir [151]. Al-Hasnawy ve ark., tarafından yapılan bir çalışmada yanık yarası örneklerinin %100'ünün lipaz açısından pozitif olduğu bulunmuştur [152]. Eid ve ark., çeşitli klinik kaynaklardan izole ettiği 98 *P. aeruginosa* suşu ile yaptığı çalışmada sadece 5 izolatın negatif lipaz üreticisi olduğu görülmüş; yara izolatlarının %76,9'unun ve endotrakeal izolatların %57,7'sinin, idrar (%16,7) ve kulak izolatlarının (%16,7) ise daha düşük lipaz aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir [153]. Çalışmamızda izolatların %58'inde lipaz tespit edilmiş olup, en yüksek aktivite balgam izolatlarında (%77,7) ve en düşük aktivite ise kan izolatlarında (%20) görülmüştür. Lipaz aktivitesinin, incelediğimiz diğer virülans faktörleriyle karşılaştırıldığında en düşük virülans faktörlerinden biri olduğu görülmüştür.

BÖLÜM 6

SONUÇ

Çalışmamızda *P. aeruginosa* pozitif 100 örnek elastaz, proteaz, hareketlilik, piyoverdin, piyosiyanin, hemoliz, seğirme (twitching) hareketliliği, mukoid fenotip, katalaz ve lipaz gibi çeşitli virülans faktörleri açısından değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda *P. aeruginosa* pozitifliğinin erkek hastalarda daha yüzde olarak daha yüksek olduğu görülmüş ancak *P. aeruginosa* pozitifliği ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Çalışmaya dahil edilen, klinik örneklerinde *P. aeruginosa* üremesi tespit edilmiş hastaların %65'inin (81/100) 60 yaş üzeri olduğu görülmüş; yaş ile (>60yaş) *P. aeruginosa* pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). *P. aeruginosa*'nın bebeklerden yaşlılara kadar her yaştan insanı etkilediği, ancak çoğunlukla >60 yaş bireylerden izole edildiği tespit edilmiştir.

Elde ettiğimiz verilere göre, klinik örneklerin dağılımını %31 idrar, %30 ETA, %20 apse, %9 balgam, %5 kan, %3 BAL ve %2 kulak örneği oluşturmaktadır.

İzolatların çoğunun yoğun bakım ünitesi (%39) ve palyatif bakım (%9) ünitesinden gönderilen klinik örneklerden izole edildiği görülmüş, *P. aeruginosa* enfeksiyonunun bağışıklık sistemi zayıflamış hastaları daha çok etkilediği belirlenmiştir.

Virülans faktörlerinin pozitiflik oranları ise elastaz %76, proteaz %56, motilite %92, piyoverdin %86, piyosiyanin %60, hemoliz %87, seğirme motilitesi %82, lipaz için %58, mukoid fenotip %79 ve katalaz için %100 tespit edilmiştir.

Klinik izolatlardan elde edilen *P. aeruginosa* suşlarındaki virölans faktörlerinin araştırılması, bu fırsatçı patojenin patojenik mekanizmaları ve potansiyel terapötik hedefleri hakkında kritik bilgiler sağlamaktadır. Araştırmalar, virölans faktörlerini tanımlayıp karakterize ederek *P. aeruginosa*'nın nasıl infeksiyon oluşturduğunu, bağışıklık tepkisinden kaçtığını ve tedaviye nasıl direnç gösterdiğinin daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır. Bu bilgi, bu çok yönlü ve çoğunlukla çoklu ilaca dirençli bakterinin neden olduğu infeksiyonlarla mücadele etmek amacıyla yeni antimikrobiyal ajanlar ve aşılar dahil olmak üzere hedefe yönelik müdahalelerin geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir.



KAYNAKLAR

1. Lyczak, J. B., Cannon, C. L., and Pier, G. B., "Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist", ***Microbes And Infection***, 2 (9): 1051–1060 (2000).
2. Murray, P. R., Rosenthal, K. S., and Pfaller, M. A., "Medical Microbiology", 7th. Ed., ***ELSEVIER-Mosby***, 358–367 .
3. Palleroni, N. J., "Prokaryote taxonomy of the 20th century and the impact of studies on the genus *Pseudomonas*: a personal view", ***Microbiology (Reading, England)***, 149 (Pt 1): 1–7 (2003).
4. Blanc, D. S., Petignat, C., Janin, B., Bille, J., and Francioli, P., "Frequency and molecular diversity of *Pseudomonas aeruginosa* upon admission and during hospitalization: a prospective epidemiologic study", ***Clinical Microbiology And Infection: The Official Publication Of The European Society Of Clinical Microbiology And Infectious Diseases***, 4 (5): 242–247 (1998).
5. Rice, L. B., "Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE", ***The Journal Of Infectious Diseases***, 197 (8): 1079–1081 (2008).
6. Internet: WHO, "Prioritization of Pathogens to Guide Discovery, Research and Development of New Antibiotics for Drug-Resistant Bacterial Infections, Including Tuberculosis", <https://www.who.int/publications-detail-redirect/WHO-EMP-IAU-2017.12> (2023).
7. Jurado-Martín, I., Sainz-Mejías, M., and McClean, S., "*Pseudomonas aeruginosa*: An Audacious Pathogen with an Adaptable Arsenal of Virulence Factors", ***International Journal Of Molecular Sciences***, 22 (6): 3128 (2021).
8. Liao, C., Huang, X., Wang, Q., Yao, D., and Lu, W., "Virulence Factors of *Pseudomonas Aeruginosa* and Antivirulence Strategies to Combat Its Drug Resistance", ***Frontiers In Cellular And Infection Microbiology***, 12: 926758 (2022).
9. Rumbaugh, K. P., Griswold, J. A., and Hamood, A. N., "The role of quorum sensing in the in vivo virulence of *Pseudomonas aeruginosa*", ***Microbes And Infection***, 2 (14): 1721–1731 (2000).
10. "Temel ve Klinik Mikrobiyoloji", ***Güneş Kitabevi***, Ankara, 733–738 (1999).
11. Diggle, S. P. and Whiteley, M., "Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat", ***Microbiology***, 166 (1): 30–33 (2020).

12. "Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology," 24th ed. Ed., **Appleton & Lange**, USA, 229–234 (2007).
13. Levinson, W., "Review of Medical Microbiology and Immunology", Fourteenth Edition. Ed., **McGraw-Hill Education**, United States Of America, 165–166 (2016).
14. Breidenstein, E. B. M., de la Fuente-Núñez, C., and Hancock, R. E. W., "Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistance", **Trends In Microbiology**, 19 (8): 419–426 (2011).
15. Pratt, L. A. and Kolter, R., "Genetic analyses of bacterial biofilm formation", **Current Opinion In Microbiology**, 2 (6): 598–603 (1999).
16. Deretic, V., Schurr, M. J., and Yu, H., "Pseudomonas aeruginosa, mucoidy and the chronic infection phenotype in cystic fibrosis", **Trends In Microbiology**, 3 (9): 351–356 (1995).
17. Bilgehan, H., "Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları", 10. Basım. Ed., **Fakülteler Kitabevi**, İzmir, 175–197 (2000).
18. Stein, G. E., "Antimicrobial resistance in the hospital setting: impact, trends, and infection control measures", **Pharmacotherapy**, 25 (10 Pt 2): 44S-54S (2005).
19. Woodford, N. and Ellington, M. J., "The emergence of antibiotic resistance by mutation", **Clinical Microbiology And Infection**, 13 (1): 5–18 (2007).
20. Mesaros, N., Nordmann, P., Plésiat, P., Roussel-Delvallez, M., Eldere, J. V., Glupczynski, Y., Laethem, Y. V., Jacobs, F., Lebecque, P., Malfroot, A., Tulkens, P. M., and Bambeke, F. V., "Pseudomonas aeruginosa: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium", **Clinical Microbiology And Infection**, 13 (6): 560–578 (2007).
21. Kerr, K. G. and Snelling, A. M., "Pseudomonas aeruginosa: a formidable and ever-present adversary", **The Journal Of Hospital Infection**, 73 (4): 338–344 (2009).
22. Chiller, K., Selkin, B. A., and Murakawa, G. J., "Skin Microflora and Bacterial Infections of the Skin", **Journal Of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, 6 (3): 170–174 (2001).
23. Chan, J. and Hadley, J., "The Microbiology of Chronic Rhinosinusitis: Results of a Community Surveillance Study", **Ear, Nose & Throat Journal**, 80 (3): 143–145 (2001).
24. Shannon, K. P. and French, G. L., "Increasing resistance to antimicrobial agents of Gram-negative organisms isolated at a London teaching hospital, 1995–2000", **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, 53 (5): 818–825 (2004).

25. Reynolds, D. and Kollef, M., "The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: An Update", **Drugs**, 81 (18): 2117–2131 (2021).
26. Mandell, G. L., "Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practises of Infectious Diseases", 7th Edition. Ed., **Churchill Livingstone**, Philadelphia, 2835–2857 (2009).
27. Vahaboğlu, H. and Akhan, S., "Pseudomonas Aeruginosa ve Diğer Pseudomonas Türleri. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi.", 2. cilt. Ed., **Nobel Tıp Kitabevleri**, İstanbul, 1008–1024 (2002).
28. von Götz, F., Häussler, S., Jordan, D., Saravanamuthu, S. S., Wehmhöner, D., Strüßmann, A., Lauber, J., Attree, I., Buer, J., Tümmler, B., and Steinmetz, I., "Expression analysis of a highly adherent and cytotoxic small colony variant of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a lung of a patient with cystic fibrosis", **Journal Of Bacteriology**, 186 (12): 3837–3847 (2004).
29. Wu, L. R., Zaborina, O., Zaborin, A., Chang, E. B., Musch, M., Holbrook, C., Turner, J. R., and Alverdy, J. C., "Surgical injury and metabolic stress enhance the virulence of the human opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*", **Surgical Infections**, 6 (2): 185–195 (2005).
30. Smedley, J. G., Jewell, E., Roguskie, J., Horzempa, J., Syboldt, A., Stolz, D. B., and Castric, P., "Influence of Pilin Glycosylation on *Pseudomonas aeruginosa* 1244 Pilus Function", **Infection And Immunity**, 73 (12): 7922–7931 (2005).
31. Pollack, M., Koles, N. L., Preston, M. J., Brown, B. J., and Pier, G. B., "Functional properties of isotype-switched immunoglobulin M (IgM) and IgG monoclonal antibodies to *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide.", **Infection And Immunity**, 63 (11): 4481–4488 (1995).
32. Vance, R. E., Rietsch, A., and Mekalanos, J. J., "Role of the Type III Secreted Exoenzymes S, T, and Y in Systemic Spread of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 In Vivo", **Infection And Immunity**, 73 (3): 1706–1713 (2005).
33. Rocha, C. L., Coburn, J., Rucks, E. A., and Olson, J. C., "Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* Exoenzyme S as a Bifunctional Enzyme in J774A.1 Macrophages", **Infection And Immunity**, 71 (9): 5296–5305 (2003).
34. Urgancı, N. N., Yılmaz, N., Koçer Alaşalvar, G., and Yıldırım, Z., "Pseudomonas aeruginosa and Its Pathogenicity", **Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology**, 10 (4): 726–738 (2022).
35. Dickey, S. W., Cheung, G. Y. C., and Otto, M., "Different drugs for bad bugs: antivirulence strategies in the age of antibiotic resistance", **Nature Reviews Drug Discovery**, 16 (7): 457–471 (2017).
36. Rasko, D. A. and Sperandio, V., "Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease", **Nature Reviews Drug Discovery**, 9 (2): 117–128 (2010).

37. Miao, E. A., Andersen-Nissen, E., Warren, S. E., and Aderem, A., "TLR5 and Ipaf: dual sensors of bacterial flagellin in the innate immune system", ***Seminars In Immunopathology***, 29 (3): 275–288 (2007).
38. Sampedro, I., Parales, R. E., Krell, T., and Hill, J. E., "Pseudomonas chemotaxis", ***FEMS Microbiology Reviews***, 39 (1): 17–46 (2015).
39. Ozer, E., Yaniv, K., Chetrit, E., Boyarski, A., Meijler, M. M., Berkovich, R., Kushmaro, A., and Alfonta, L., "An inside look at a biofilm: Pseudomonas aeruginosa flagella biotracking", ***Science Advances***, 7 (24): eabg8581 (2021).
40. Campodónico, V. L., Llosa, N. J., Grout, M., Döring, G., Maira-Litrán, T., and Pier, G. B., "Evaluation of flagella and flagellin of Pseudomonas aeruginosa as vaccines", ***Infection And Immunity***, 78 (2): 746–755 (2010).
41. Kipnis, E., Sawa, T., and Wiener-Kronish, J., "Targeting mechanisms of Pseudomonas aeruginosa pathogenesis", ***Médecine Et Maladies Infectieuses***, 36 (2): 78–91 (2006).
42. Yeung, A. T. Y., Torfs, E. C. W., Jamshidi, F., Bains, M., Wiegand, I., Hancock, R. E. W., and Overhage, J., "Swarming of Pseudomonas aeruginosa is controlled by a broad spectrum of transcriptional regulators, including MetR", ***Journal Of Bacteriology***, 191 (18): 5592–5602 (2009).
43. Craig, L., Pique, M., and Tainer, J., "Type IV pilus structure bacterial pathogenicity", ***Nature Reviews. Microbiology***, 2: 363–78 (2004).
44. Sriramulu, D. D., Lünsdorf, H., Lam, J. S., and Römling, U., "Microcolony formation: a novel biofilm model of Pseudomonas aeruginosa for the cystic fibrosis lung", ***Journal Of Medical Microbiology***, 54 (7): 667–676 (2005).
45. Pier, G. B., "Pseudomonas aeruginosa lipopolysaccharide: a major virulence factor, initiator of inflammation and target for effective immunity", ***International Journal Of Medical Microbiology: IJMM***, 297 (5): 277–295 (2007).
46. Rocha, A. J., Barsottini, M. R. de O., Rocha, R. R., Laurindo, M. V., Moraes, F. L. L. de, and Rocha, S. L. da, "Pseudomonas Aeruginosa: Virulence Factors and Antibiotic Resistance Genes", ***Brazilian Archives Of Biology And Technology***, 62: e19180503 (2019).
47. Huszczyński, S. M., Lam, J. S., and Khursigara, C. M., "The Role of Pseudomonas aeruginosa Lipopolysaccharide in Bacterial Pathogenesis and Physiology", ***Pathogens***, 9 (1): 6 (2019).
48. Goldberg, J. B. and Pier, G. B., "Pseudomonas aeruginosa lipopolysaccharides and pathogenesis", ***Trends In Microbiology***, 4 (12): 490–494 (1996).
49. King, J. D., Kocíncová, D., Westman, E. L., and Lam, J. S., "Review: Lipopolysaccharide biosynthesis in Pseudomonas aeruginosa", ***Innate Immunity***, 15 (5): 261–312 (2009).

50. Mathee, K., Ciofu, O., Sternberg, C., Lindum, P. W., Campbell, J. I. A., Jensen, P., Johnsen, A. H., Givskov, M., Ohman, D. E., Søren, M., Høiby, N., and Kharazmi, A., "Muroid conversion of *Pseudomonas aeruginosa* by hydrogen peroxide: a mechanism for virulence activation in the cystic fibrosis lung", ***Microbiology (Reading, England)***, 145 (Pt 6): 1349–1357 (1999).
51. Benie, C. K. D., Dadié, A., Guessennd, N., N'gbesso-Kouadio, N. A., Kouame, N. D., N'golo, D. C., Aka, S., Dako, E., Dje, K. M., and Dosso, M., "Characterization of Virulence Potential of *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Bovine Meat, Fresh Fish, and Smoked Fish", ***European Journal Of Microbiology & Immunology***, 7 (1): 55–64 (2017).
52. Stapper, A. P., Narasimhan, G., Ohman, D. E., Barakat, J., Hentzer, M., Molin, S., Kharazmi, A., Høiby, N., and Mathee, K., "Alginate production affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development and architecture, but is not essential for biofilm formation", ***Journal Of Medical Microbiology***, 53 (7): 679–690 (2004).
53. Bleves, S., Viarre, V., Salacha, R., Michel, G. P. F., Filloux, A., and Voulhoux, R., "Protein secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*: A wealth of pathogenic weapons", ***International Journal Of Medical Microbiology***, 300 (8): 534–543 (2010).
54. Proctor, L. L., Ward, W. L., Roggy, C. S., Koontz, A. G., Clark, K. M., Quinn, A. P., Schroeder, M., Brooks, A. E., Small, J. M., Towne, F. D., and Brooks, B. D., "Potential Therapeutic Targets for Combination Antibody Therapy against *Pseudomonas aeruginosa* Infections", ***Antibiotics (Basel, Switzerland)***, 10 (12): 1530 (2021).
55. Ball, G., Viarre, V., Garvis, S., Voulhoux, R., and Filloux, A., "Type II-dependent secretion of a *Pseudomonas aeruginosa* DING protein", ***Research In Microbiology***, 163 (6): 457–469 (2012).
56. Zhang, A., Veessenmeyer, J. L., and Hauser, A. R., "Phosphatidylinositol 4,5-Bisphosphate-Dependent Oligomerization of the *Pseudomonas aeruginosa* Cytotoxin ExoU", ***Infection And Immunity***, 86 (1): e00402-17 (2017).
57. Horna, G. and Ruiz, J., "Type 3 secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*", ***Microbiological Research***, 246: 126719 (2021).
58. Ma, L., Conover, M., Lu, H., Parsek, M. R., Bayles, K., and Wozniak, D. J., "Assembly and Development of the *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Matrix", ***PLoS Pathogens***, 5 (3): e1000354 (2009).
59. Henderson, I. R., Navarro-Garcia, F., Desvaux, M., Fernandez, R. C., and Ala'Aldeen, D., "Type V Protein Secretion Pathway: the Autotransporter Story", ***Microbiology And Molecular Biology Reviews***, 68 (4): 692–744 (2004).
60. Basler, M., Ho, B. T., and Mekalanos, J. J., "Tit-for-Tat: Type VI Secretion System Counterattack during Bacterial Cell-Cell Interactions", ***Cell***, 152 (4): 884–894 (2013).

61. Sana, T. G., Berni, B., and Bleves, S., "The T6SSs of *Pseudomonas aeruginosa* Strain PAO1 and Their Effectors: Beyond Bacterial-Cell Targeting", ***Frontiers In Cellular And Infection Microbiology***, 6: (2016).
62. Gellatly, S. L. and Hancock, R. E. W., "Pseudomonas aeruginosa: new insights into pathogenesis and host defenses", ***Pathogens And Disease***, 67 (3): 159–173 (2013).
63. Gillespie, S. H. and Hawkey, P. M., "Principles and Practice of Clinical Bacteriology", 2nd. Ed., ***John Wiley & Sons Ltd***, England, 427-435. (2005).
64. Le Berre, R., Nguyen, S., Nowak, E., Kipnis, E., Pierre, M., Quenee, L., Ader, F., Lancel, S., Courcol, R., Guery, B. P., Faure, K., and Pyopneumagen Group, "Relative contribution of three main virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia", ***Critical Care Medicine***, 39 (9): 2113–2120 (2011).
65. Goldberg, J. B. and Ohman, D. E., "Activation of an elastase precursor by the lasA gene product of *Pseudomonas aeruginosa*", ***Journal Of Bacteriology***, 169 (10): 4532–4539 (1987).
66. Matsumoto, K., "Role of bacterial proteases in pseudomonal and serratal keratitis", ***Biological Chemistry***, 385 (11): 1007–1016 (2004).
67. Milesi Galdino, A. C., Branquinha, M., Santos, A., and Viganor, L., "Pseudomonas aeruginosa and Its Arsenal of Proteases: Weapons to Battle the Host", *Pathophysiological Aspects of Proteases*, (2017).
68. Matheson, N. R., Potempa, J., and Travis, J., "Interaction of a novel form of *Pseudomonas aeruginosa* alkaline protease (aeruginolysin) with interleukin-6 and interleukin-8", ***Biological Chemistry***, 387 (7): 911–915 (2006).
69. Cornelis, P. and Dingemans, J., "Pseudomonas aeruginosa adapts its iron uptake strategies in function of the type of infections", ***Frontiers In Cellular And Infection Microbiology***, 3: (2013).
70. Sass, G., Miller Conrad, L. C., Nguyen, T.-T. H., and Stevens, D. A., "The *Pseudomonas aeruginosa* product pyochelin interferes with *Trypanosoma cruzi* infection and multiplication in vitro", ***Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene***, 114 (7): 492–498 (2020).
71. Pan, S.-Y., Shih, Y.-L., Huang, H.-H., Li, L.-H., Lin, Y.-T., and Yang, T.-C., "The involvement of PacIRA system of *Stenotrophomonas maltophilia* in the uptake of *Pseudomonas aeruginosa* pyochelin and intraspecies competition for iron acquisition", ***Journal Of Microbiology, Immunology, And Infection = Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi***, 55 (2): 273–281 (2022).
72. Visca, P., Imperi, F., and Lamont, I. L., "Pyoverdine siderophores: from biogenesis to biosignificance", ***Trends In Microbiology***, 15 (1): 22–30 (2007).

73. Ghssein, G. and Ezzeddine, Z., "A Review of Pseudomonas aeruginosa Metallophores: Pyoverdine, Pyochelin and Pseudopaline", **Biology**, 11 (12): 1711 (2022).
74. Dumas, Z., Ross-Gillespie, A., and Kümmerli, R., "Switching between apparently redundant iron-uptake mechanisms benefits bacteria in changeable environments", **Proceedings. Biological Sciences**, 280 (1764): 20131055 (2013).
75. Van Delden, C. and Iglewski, B. H., "Cell-to-cell signaling and Pseudomonas aeruginosa infections.", **Emerging Infectious Diseases**, 4 (4): 551–560 (1998).
76. Wood, S., Goldufsky, J., and Shafikhani, S. H., "Pseudomonas aeruginosa ExoT Induces Atypical Anoikis Apoptosis in Target Host Cells by Transforming Crk Adaptor Protein into a Cytotoxin", **PLoS Pathogens**, 11 (5): e1004934 (2015).
77. Verma, N., Dollinger, P., Kovacic, F., Jaeger, K.-E., and Gohlke, H., "The Membrane-Integrated Steric Chaperone Lif Facilitates Active Site Opening of Pseudomonas aeruginosa Lipase A", **Journal Of Computational Chemistry**, 41 (6): 500–512 (2020).
78. Zhang, Z. and Zhang, X., "Evolution of Subfamily I.1 Lipases in Pseudomonas aeruginosa", **Current Microbiology**, 78 (9): 3494–3504 (2021).
79. Barker, A. P., Vasil, A. I., Filloux, A., Ball, G., Wilderman, P. J., and Vasil, M. L., "A novel extracellular phospholipase C of Pseudomonas aeruginosa is required for phospholipid chemotaxis", **Molecular Microbiology**, 53 (4): 1089–1098 (2004).
80. König, B., Vasil, M. L., and König, W., "Role of haemolytic and non-haemolytic phospholipase C from Pseudomonas aeruginosa in interleukin-8 release from human monocytes", **Journal Of Medical Microbiology**, 46 (6): 471–478 (1997).
81. Donlan, R. M., "Biofilms: Microbial Life on Surfaces", **Emerging Infectious Diseases**, 8 (9): 881–890 (2002).
82. Rollet, C., Gal, L., and Guzzo, J., "Biofilm-detached cells, a transition from a sessile to a planktonic phenotype: a comparative study of adhesion and physiological characteristics in Pseudomonas aeruginosa", **FEMS Microbiology Letters**, 290 (2): 135–142 (2009).
83. Lewis, K., "Riddle of biofilm resistance", **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, 45 (4): 999–1007 (2001).
84. Ghafoor, A., Hay, I. D., and Rehm, B. H. A., "Role of exopolysaccharides in Pseudomonas aeruginosa biofilm formation and architecture", **Applied And Environmental Microbiology**, 77 (15): 5238–5246 (2011).
85. Al-Wrafy, F., Brzozowska, E., Górská, S., and Gamian, A., "Pathogenic factors of Pseudomonas aeruginosa - the role of biofilm in pathogenicity and as a target for phage therapy", **Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej (Online)**, 71 (0): 78–91 (2017).

86. Jones, C. J. and Wozniak, D. J., "Psl Produced by Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* Contributes to the Establishment of Biofilms and Immune Evasion", *mBio*, 8 (3): e00864-17 (2017).
87. Ma, L., Wang, S., Wang, D., Parsek, M. R., and Wozniak, D. J., "The roles of biofilm matrix polysaccharide Psl in mucoid *Pseudomonas aeruginosa* biofilms", *FEMS Immunology And Medical Microbiology*, 65 (2): 377–380 (2012).
88. Billings, N., Millan, M. R., Caldara, M., Rusconi, R., Tarasova, Y., Stocker, R., and Ribbeck, K., "The Extracellular Matrix Component Psl Provides Fast-Acting Antibiotic Defense in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms", *PLOS Pathogens*, 9 (8): e1003526 (2013).
89. Mishra, M., Byrd, M. S., Sergeant, S., Azad, A. K., Parsek, M. R., McPhail, L., Schlesinger, L. S., and Wozniak, D. J., "Pseudomonas aeruginosa Psl polysaccharide reduces neutrophil phagocytosis and the oxidative response by limiting complement-mediated opsonization", *Cellular Microbiology*, 14 (1): 95–106 (2012).
90. Friedman, L. and Kolter, R., "Genes involved in matrix formation in *Pseudomonas aeruginosa* PA14 biofilms", *Molecular Microbiology*, 51 (3): 675–690 (2004).
91. Colvin, K. M., Alnabelseya, N., Baker, P., Whitney, J. C., Howell, P. L., and Parsek, M. R., "PelA deacetylase activity is required for Pel polysaccharide synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*", *Journal Of Bacteriology*, 195 (10): 2329–2339 (2013).
92. Jennings, L. K., Storek, K. M., Ledvina, H. E., Coulon, C., Marmont, L. S., Sadovskaya, I., Secor, P. R., Tseng, B. S., Scian, M., Filloux, A., Wozniak, D. J., Howell, P. L., and Parsek, M. R., "Pel is a cationic exopolysaccharide that cross-links extracellular DNA in the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix", *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 112 (36): 11353–11358 (2015).
93. Baker, P., Hill, P. J., Snarr, B. D., Alnabelseya, N., Pesttrak, M. J., Lee, M. J., Jennings, L. K., Tam, J., Melnyk, R. A., Parsek, M. R., Sheppard, D. C., Wozniak, D. J., and Howell, P. L., "Exopolysaccharide biosynthetic glycoside hydrolases can be utilized to disrupt and prevent *Pseudomonas aeruginosa* biofilms", *Science Advances*, 2 (5): e1501632 (2016).
94. Finch, R. G., Pritchard, D. I., Bycroft, B. W., Williams, P., and Stewart, G. S., "Quorum sensing: a novel target for anti-infective therapy", *The Journal Of Antimicrobial Chemotherapy*, 42 (5): 569–571 (1998).
95. Miranda, S. W., Asfahl, K. L., Dandekar, A. A., and Greenberg, E. P., "Pseudomonas aeruginosa Quorum Sensing", *Advances In Experimental Medicine And Biology*, 1386: 95–115 (2022).

96. Verdial, C., Serrano, I., Tavares, L., Gil, S., and Oliveira, M., "Mechanisms of Antibiotic and Biocide Resistance That Contribute to *Pseudomonas aeruginosa* Persistence in the Hospital Environment", ***Biomedicines***, 11 (4): 1221 (2023).
97. Toder, D. S., Ferrell, S. J., Nezezon, J. L., Rust, L., and Iglewski, B. H., "lasA and lasB genes of *Pseudomonas aeruginosa*: analysis of transcription and gene product activity", ***Infection And Immunity***, 62 (4): 1320–1327 (1994).
98. Lee, J. and Zhang, L., "The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*", ***Protein & Cell***, 6 (1): 26–41 (2015).
99. Sankar Ganesh, P. and Ravishankar Rai, V., "Attenuation of quorum-sensing-dependent virulence factors and biofilm formation by medicinal plants against antibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa*", ***Journal Of Traditional And Complementary Medicine***, 8 (1): 170–177 (2017).
100. Tang, K. and Zhang, X.-H., "Quorum Quenching Agents: Resources for Antivirulence Therapy", ***Marine Drugs***, 12 (6): 3245–3282 (2014).
101. Jimenez, P. N., Koch, G., Thompson, J. A., Xavier, K. B., Cool, R. H., and Quax, W. J., "The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa*", ***Microbiology And Molecular Biology Reviews: MMBR***, 76 (1): 46–65 (2012).
102. "Manual of Clinical Microbiology", 9th Edition. Ed., **DC: ASM Press**, Washington, 734–748 (2008).
103. Çakar, A., "Hacettepe Üniversitesi Hastanesi’de ayrıştırılan *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında metallo-beta-laktamaz enziminin fenotipik ve genotipik yöntemler ile araştırılması.", DOKTORA TEZ, ***Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü***, Ankara, (2005).
104. Karlowsky, J. A., Draghi, D. C., Jones, M. E., Thornsberry, C., Friedland, I. R., and Sahm, D. F., "Surveillance for Antimicrobial Susceptibility among Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from Hospitalized Patients in the United States, 1998 to 2001", ***Antimicrobial Agents And Chemotherapy***, 47 (5): 1681–1688 (2003).
105. Maejima, K., Deitch, E. A., and Berg, R. D., "Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of rats receiving thermal injury", ***Infection And Immunity***, 43 (1): 6–10 (1984).
106. Sánchez, A., Gattarello, S., and Rello, J., "New treatment options for infections caused by multiresistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermenting gram-negative bacilli", ***Seminars In Respiratory And Critical Care Medicine***, 32 (2): 151–158 (2011).
107. Hancock, R. E. W. and Speert, D. P., "Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment", ***Drug Resistance Updates***, 3 (4): 247–255 (2000).

108. Hall, C. W., Hinz, A. J., Gagnon, L. B.-P., Zhang, L., Nadeau, J.-P., Copeland, S., Saha, B., and Mah, T.-F., "Pseudomonas aeruginosa Biofilm Antibiotic Resistance Gene ndvB Expression Requires the RpoS Stationary-Phase Sigma Factor", *Applied And Environmental Microbiology*, 84 (7): e02762-17 (2018).
109. Cox, G. and Wright, G. D., "Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions", *International Journal Of Medical Microbiology: IJMM*, 303 (6–7): 287–292 (2013).
110. Poole, K., "Pseudomonas Aeruginosa: Resistance to the Max", *Frontiers In Microbiology*, 2: (2011).
111. Zincke, D., Balasubramanian, D., Silver, L. L., and Mathee, K., "Characterization of a carbapenem-hydrolyzing enzyme, PoxB, in Pseudomonas aeruginosa PAO1", *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 60 (2): 936–945 (2016).
112. Okamoto, K., Gotoh, N., and Nishino, T., "Pseudomonas aeruginosa reveals high intrinsic resistance to penem antibiotics: Penem resistance mechanisms and their interplay", *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 45 (7): 1964–1971 (2001).
113. Munita, J. M. and Arias, C. A., "Mechanisms of Antibiotic Resistance", *Microbiology Spectrum*, 4 (2): (2016).
114. Henrichfreise, B., Wiegand, I., Pfister, W., and Wiedemann, B., "Resistance mechanisms of multiresistant Pseudomonas aeruginosa strains from Germany and correlation with hypermutation", *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 51 (11): 4062–4070 (2007).
115. Fernández, L., Breidenstein, E. B. M., and Hancock, R. E. W., "Creeping baselines and adaptive resistance to antibiotics", *Drug Resistance Updates: Reviews And Commentaries In Antimicrobial And Anticancer Chemotherapy*, 14 (1): 1–21 (2011).
116. Taylor, P. K., Yeung, A. T. Y., and Hancock, R. E. W., "Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa biofilms: towards the development of novel anti-biofilm therapies", *Journal Of Biotechnology*, 191: 121–130 (2014).
117. Stover, C. K., Pham, X. Q., Erwin, A. L., Mizoguchi, S. D., Warrener, P., Hickey, M. J., Brinkman, F. S., Hufnagle, W. O., Kowalik, D. J., Lagrou, M., Garber, R. L., Goltry, L., Tolentino, E., Westbrook-Wadman, S., Yuan, Y., Brody, L. L., Coulter, S. N., Folger, K. R., Kas, A., Larbig, K., Lim, R., Smith, K., Spencer, D., Wong, G. K., Wu, Z., Paulsen, I. T., Reizer, J., Saier, M. H., Hancock, R. E., Lory, S., and Olson, M. V., "Complete genome sequence of Pseudomonas aeruginosa PAO1, an opportunistic pathogen", *Nature*, 406 (6799): 959–964 (2000).
118. Lambert, P. A., "Mechanisms of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa.", *Journal Of The Royal Society Of Medicine*, 95 (Suppl 41): 22–26 (2002).

119. Tielen, P., Narten, M., Rosin, N., Biegler, I., Haddad, I., Hogardt, M., Neubauer, R., Schobert, M., Wiehlmann, L., and Jahn, D., "Genotypic and phenotypic characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from urinary tract infections", ***International Journal Of Medical Microbiology: IJMM***, 301 (4): 282–292 (2011).
120. Bibi, K., Khattak, M., Ahmad, N., Ishaq, M. S., and Muhammad, A., "Isolation, Identification And Antimicrobial Analysis Of *Pseudomonas aeruginosa* From Different Clinical Samples And To Study The Interactions Of Target And Resistant Proteins With Cefepime And Imipenem Through Docking", 8 (1): (2015).
121. Read, R. C., Roberts, P., Munro, N., Rutman, A., Hastie, A., Shryock, T., Hall, R., McDonald-Gibson, W., Lund, V., Taylor, G., and et, al., "Effect of *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids on mucociliary transport and ciliary beating", ***Journal Of Applied Physiology***, 72 (6): 2271–2277 (1992).
122. Özkan, B. and Budak, F., "Investigation of Virulence Factors and Antibiotic Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from A Range of Clinical Samples", ***Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi***, 9 (2): 137–143 (2023).
123. Ali, N. M., Chatta, S., Liaqat, I., Mazhar, S. A., Mazhar, B., and Zahid, S., "Pseudomonas aeruginosa associated pulmonary infections and in vitro amplification virulent rhamnolipid (rhlR) gene", ***Brazilian Journal Of Biology = Revista Brasileira De Biologia***, 82: e228009 (2021).
124. Shahri, F. N., Izanloo, A., Goharrizi, M. A. S. B., Jamali, A., Bagheri, H., Hjimohammadi, A., and Ardebili, A., "Antimicrobial resistance, virulence factors, and genotypes of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Gorgan, northern Iran", ***International Microbiology***, 25 (4): 709–721 (2022).
125. Maçın, S., Akdoğan Kittana, F., and Akyön, Y., "Çeşitli klinik örneklerden izole edilen pseudomonas aeruginosa suşlarının virülans faktörlerinin incelenmesi", ***Cukurova Medical Journal (Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi)***, 42: 308–308 (2017).
126. Ali AL-SAADİ, Y. K., "Klinik *Pseudomonas aeruginosa*'nin Virülans Faktörlerinin Ve Antibiyotik Direnç Örneklerinin Tespiti", Yüksek Lisans Tezi, ***Çankiri Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü***, Çankiri, (2021).
127. Rodulfo, H., Arcia, A., Hernández, A., Michelli, E., Martinez, D. D. V., Guzman, M., Sharma, A., and Donato, M. D., "Virulence factors and integrons are associated with MDR and XDR phenotypes in nosocomial strains of *Pseudomonas aeruginosa* in a Venezuelan university hospital", ***Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo***, 61: e20 (2019).
128. Jones, A. M., Dodd, M. E., Govan, J. R. W., Doherty, C. J., Smith, C. M., Isalska, B. J., and Webb, A. K., "Prospective surveillance for *Pseudomonas aeruginosa* cross-infection at a cystic fibrosis center", ***American Journal Of Respiratory And Critical Care Medicine***, 171 (3): 257–260 (2005).

129. Özer, B., Babayiğit, C., Çolak, S., Önlen, C., Çimen, F., Boyacıgil, İ., and Akküçük, Ş., "Pnömoni Etkenleri ve Antimikrobiyal Direnç Durumları", **The Medical Journal Of Mustafa Kemal University**, 7 (27): 0–0 (2016).
130. Özdemir, M., Erayman, İ., Dağı, H. T., Baykan, M., and Baysal, B., "Hastane Enfeksiyonu Etkeni Pseudomonas Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları", .
131. Samad, A., Ahmed, T., Rahim, A., Khalil, A., and Ali, I., "Antimicrobial susceptibility patterns of clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients of respiratory tract infections in a Tertiary Care Hospital, Peshawar", **Pakistan Journal Of Medical Sciences**, 33 (3): 670–674 (2017).
132. Harris, A. D., Jackson, S. S., Robinson, G., Pineles, L., Leekha, S., Thom, K. A., Wang, Y., Doll, M., Pettigrew, M. M., and Johnson, J. K., "Pseudomonas aeruginosa colonization in the ICU: Prevalence, risk factors and clinical outcomes", **Infection Control And Hospital Epidemiology**, 37 (5): 544–548 (2016).
133. Atıcıyurt, Z. B., "Pseudomonas aeruginosa Suşlarında Virülans Faktörlerinin Fenotipik Yöntemlerle Araştırılması", **Erciyes Üniversitesi**, Kayseri, (2016).
134. Yavuz, C., "Hastane Kökenli Pseudomonas aeruginosa Suşlarının Virülans Faktörlerinin Quorum Sensing Yönünden Değerlendirilmesi Ve Epitel Hücrelerindeki Etkileri", Doktora Tezi, **Anadolu Üniversitesi**, Eskişehir, (2018).
135. Soylamış, T., "Klinik Örneklerden İzole Edilen Pseudomonas aeruginosa Suşlarında Beta-Laktamaz Üretimi Ve Biyofilm Varlığının Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, **Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Konya, (2016).
136. Nassar, O., Desouky, S. E., El-Sherbiny, G. M., and Abu-Elghait, M., "Correlation between phenotypic virulence traits and antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa clinical isolates", **Microbial Pathogenesis**, 162: 105339 (2022).
137. Çiragil, P. and Söyletir, G., "Çeşitli vücut bölgelerinden izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının aljinat, elastaz ve alkali proteaz üretimleri", **Mikrobiyoloji Bülteni**, 38 (4): 341–347 (2004).
138. Karatuna, O., "Solunum sistemi enfeksiyonlarından izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının virülans faktörlerinin fenotipik ve genotipik yöntemlerle belirlenmesi.", Uzmanlık Tezi., **Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, İstanbul, (2008).
139. Schaber, J., Carty, N., McDonald, N., Graham, E., Cheluvappa, R., Griswold, J., and Hamood, A., "Analysis of quorum sensing-deficient clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa", **Journal Of Medical Microbiology**, 53: 841–53 (2004).

140. Shin, D.-H., Choi, Y.-S., and Cho, Y.-H., "Unusual Properties of Catalase A (KatA) of *Pseudomonas aeruginosa* PA14 Are Associated with Its Biofilm Peroxide Resistance", ***Journal Of Bacteriology***, 190 (8): 2663–2670 (2008).
141. Domínguez-Bello, M. G., Reyes, N., Teppa-Garrán, A., and Romero, R., "Interference of *Pseudomonas* Strains in the Identification of *Helicobacter pylori*", ***Journal Of Clinical Microbiology***, 38 (2): 937 (2000).
142. Rashid, M. H. and Kornberg, A., "Inorganic polyphosphate is needed for swimming, swarming, and twitching motilities of *Pseudomonas aeruginosa*", ***Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America***, 97 (9): 4885–4890 (2000).
143. DÜZGÜN, D., "Değişik Kaynaklardan İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Virülans Faktörleri, Biyofilm Formasyonu Ve Quorum Sensing Yönünden Değerlendirilmesi.", DOKTORA TEZİ, ***ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ***, BURSA, (2009).
144. S, P., S, U., and S, S. K., "Detection of virulence determinants and its association with drug resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*", ***International Journal Of Research In Medical Sciences***, 4 (9): 3917–3923 (2016).
145. Prasad, B., "PREVALENCE AND CHARACTERIZATION OF VIRULENCE PROPERTIES OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* FROM CLINICAL SAMPLES AND HOSPITAL ENVIRONMENT IN DEHRADUN", 6: 491–499 (2015).
146. Ghadaksaz, A., Fooladi, A. A. I., Mahmoodzadeh Hosseini, H., and Amin, M., "The prevalence of some *Pseudomonas* virulence genes related to biofilm formation and alginate production among clinical isolates", ***Journal Of Applied Biomedicine***, 13 (1): 61–68 (2015).
147. Das, T. and Manefield, M., "Pyocyanin Promotes Extracellular DNA Release in *Pseudomonas aeruginosa*", ***PLoS ONE***, 7 (10): e46718 (2012).
148. F. Al Marjani, M., "Pyocyanin and Biofilm Formation in *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Burn Infections in Baghdad, Iraq", ***Jordan Journal Of Biological Sciences***, 12: (2019).
149. Hamza, E. H., El-Shawadfy, A. M., Allam, A. A., and Hassanein, W. A., "Study on pyoverdine and biofilm production with detection of LasR gene in MDR *Pseudomonas aeruginosa*", ***Saudi Journal Of Biological Sciences***, 30 (1): 103492 (2023).
150. Alonso, B., Fernández-Barat, L., Di Domenico, E. G., Marín, M., Cercenado, E., Merino, I., de Pablos, M., Muñoz, P., and Guembe, M., "Characterization of the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* strains causing ventilator-associated pneumonia", ***BMC Infectious Diseases***, 20 (1): 909 (2020).

151. Khalil, M. A. E. F., Ibrahim Sonbol, F., Mohamed, A. F. B., and Ali, S. S., "Comparative study of virulence factors among ES β L-producing and nonproducing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates", ***Turkish Journal Of Medical Sciences***, 45 (1): 60–69 (2015).
152. Al-Hasnawy, H., "Phenotypic Investigation for Virulence factors of Pyocine producing *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Burn Wounds, Iraq", ***International Journal Of Scientific & Engineering Research***, 4: 2114–2120 (2013).
153. Eid, D., Elnaggar, W., Barwa, R., and El-sokkary, T. M., "Phenotypic and genotypic characterization of some virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from different clinical sources in Mansoura University Hospitals", ***N. Egypt. J. Microbiol***, 32: 151–167 (2012).



ÖZGEÇMİŞ

Shenaz MLUDI, Macey Williams Lisesi'nden mezun olduktan sonra 2021 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldu. Aynı yıl Karabük Üniversitesi Mikrobiyoloji Bölümü Yüksek Lisans programına başvurdu ve başarılı oldu. İyi derecede İngilizce biliyor, aynı zamanda Türkçe de konuşuyor.

