

ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

BAĞDAT İLİNDE YARA VE YANIK ENFEKSİYONU OLAN HASTALARDAN  
İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*'NIN MOLEKÜLER VE  
İMMÜNOLOJİK ÇALIŞMASI

Mohammed Abdaljabbar Ahmed AHMED

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI  
2024

Her hakkı saklıdır

## TEZ ONAYI

Mohammed Abdaljabbar Ahmed AHMED tarafından hazırlanan “**Bağdat İlinde Yara Ve Yanık Enfeksiyonu Olan Hastalardan İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa*'nın Moleküler Ve İmmünolojik Çalışması**” adlı tez çalışması 28/06/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN

**Eş Danışman** : Prof. Dr. Amran Mezher LAWAS

### Jüri Üyeleri :

**Başkan** : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN  
Fiziki Coğrafya Anabilim Dalı  
Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi

**Üye** : Prof. Dr. Mine TÜRKTAS  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Gazi Üniversitesi

**Üye** : Prof. Dr. Serkan GÜLSOY  
Toprak İlimi ve Ekolojisi Anabilim Dalı  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

**Üye** : Doç. Dr. Ebru ÖZDENİZ  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Üye** : Dr. Öğr. Üyesi Ebru GÜL  
Orman Mühendisliği Anabilim Dalı  
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. Hamit ALYAR**

**Enstitü Müdürü**

## ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “**Bağdat İlinde Yara Ve Yanık Enfeksiyonu Olan Hastalardan İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa*'nın Moleküler Ve İmmünolojik Çalışması**” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (28/06/2024).

**Mohammed Abdaljabbar Ahmed AHMED**

## ÖZET

Doktora Tezi

### BAĞDAT İLİNDE YARA VE YANIK ENFEKSİYONU OLAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*'NIN MOLEKÜLER VE İMMÜNOLOJİK ÇALIŞMASI

Mohammed Abdaljabbar Ahmed AHMED

Çankırı Karatekin Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN  
Eş Danışman: Prof. Dr. Amran Mezher LAWAS

*Pseudomonas aeruginosa*, bağışıklık sistemi zayıflamış bireyleri, özellikle de ciddi yanık, yara enfeksiyonu ve benzeri rahatsızlıkları olanları fırsatçı bir şekilde enfekte eden önemli bir bakteridir. Çeşitli ilaçlara karşı dirençli olduğu bilinmektedir. Bu bakteriler olumsuz çevresel koşullarına karşı yüksek derecede toleransa sahiptir ve oldukça geniş bir sıcaklık spektrumuna dayanabilir. Çeşitli dezenfektanlara ve antibiyotiklere karşı doğal direncine ek olarak, bu organizma direnç kazandıran genler ve bakteri popülasyonu büyüdükçe hastalığa neden olma ve enfeksiyon başlatma potansiyelini artıran diğer değişkenleri edinme kapasitesine sahiptir. Yanıklar ve yaralar, bütüncül sisteme nüfuz eden, bağışıklık sistemini zayıflatan, hastanede kalış süresini uzatan ve nihayetinde hastanede bulunan enfeksiyon kapma olasılığını artıran, deride meydana gelen ciddi travmatik yaralanmalar olarak tanımlanmaktadır. Yanık ve yara enfeksiyonları genellikle sistemik antibiyotiklerin tedbirsizce uygulanması sonucunda sepsise ve ölümlere yol açabilir. Cerrahi debridman ve deri grefti gibi müdahaleler, toplumda çoklu ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa*'nın yerleşmesi için ideal koşullar yaratmaktadır. Bu durum, tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bakterinin patojenitesi tamamen virülans faktörlerine bağlıdır ve bunlar akut ve kronik enfeksiyonla ilişkili bileşenler olarak kategorize edilebilir. Birçok çalışma, belirli virülans faktörlerinin *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonlarında, özellikle de yanık ve yara enfeksiyonlarında önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Bu çalışma, Irak'ın başkenti Bağdat'taki çeşitli hastanelere başvuran 250 yanık ve yara enfeksiyonu hastasını kapsamaktadır. Ayrıca, immünolojik açıdan kontrol amacıyla 76 sağlıklı kişiden oluşan bir kontrol grubu da çalışmaya dahil edilmiştir. İzolatlar, bir dizi biyokimyasal testin yanı sıra kanlı ve MacConkey agar kullanılarak ekilmiş ve tanımlanmıştır. Doğrulayıcı tanıyı ve antibiyotik direnç profilini belirlemek için VITEK-2 kompakt sistemi kullanılmıştır. İzolatların biyofilm oluşturma kapasitesi kantitatif Mikrotitre plakası tekniği ile test edilmiştir. Tüm virülans genlerini tanımlamak için konvansiyonel polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Hem enfekte hem de sağlıklı kontrol gruplarında interlökin -1 ve 22'nin kan miktarını değerlendirmek için enzime bağlı immünosorbent test yöntemi kullanılmıştır. Yaşa bağlı olarak, en yüksek bakteri izolat sıklığı %32,9 ile 15-30 yaş

grubundan elde edilirken, bunu %26,3 ile 31-50 yaş grubu, %19,7 ile 51-70 yaş grubu ve %14,5 ile >70 yaş grubu izlemiştir. En düşük bakteri sıklığı %6,6 ile <15 yaş grubundan elde edilirken, cinsiyete göre bakıldığında kadınlarda (%60,5) erkeklere (%39,5) kıyasla daha yüksek sıklık görülmüştür. Yanık örneklerinden toplanan bakteriyel izolatlar (%51,3), yaralardan toplanan bakteriyel izolatlara (%48,7) kıyasla daha yüksektir. 76 bakteri izolatının %46,1'i güçlü biyofilm oluşturma kapasitesine, %27,6'sı orta düzeyde biyofilm oluşturma kapasitesine ve %18,4'ü zayıf biyofilm oluşturma kapasitesine sahiptir. Buna karşılık, %7,9'u biyofilm oluşturma yeteneğine sahip değildir. Bakteri izolatları arasında en yüksek direnç oranı Sefotaksim'e (%78,95) karşı görülürken, bunu Norfloksasin (%69,74) izlemiştir. Orta direnç oranı Sefepim'e (%51,32) karşı olup, bunu Seftazidin (%50) ve Piprasilin-Tazobaktam (%48,68) takip etmiştir. Buna karşılık, en düşük direnç oranı sırasıyla Siprofloksasin (%39,47), Gentamisin (%36,84), İmipenem ve Meropenem (%35,53)'dir. Ayrıca, en düşük direnç oranı Amikasin'e (%34,21) karşı görülmüştür. Bakteri izolatları arasında virülans geni prevalansı yüksek olup algD (%90,79), plcH (%59), plcN (%76,32), LasB (%77,63) ve exoS (%73,68) olarak sıralanmıştır. İmmünolojik açıdan, *P. aeruginosa* ile enfekte hastaların ortalama IL-1 ve IL-22 serum seviyeleri (sırasıyla 5,235±1,160 ve 30,93±4,289 pg/mL) kontrol grubuna (sırasıyla 3,838±1,050 ve 23,39±4,243 pg/mL) göre daha yüksektir. Ayrıca, IL-1 ve IL-22 serum düzeyleri açısından her iki çalışma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır (p değeri<0,0001). Sonuç olarak, *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi hastane enfeksiyonlarında, özellikle de yanık ve yara vakalarında benzersiz bir rol oynamaktadır. Bunun nedeni, antibiyotiklere karşı geniş bir direnç yelpazesi göstermeleri, ayrıca biyofilm oluşturma kapasiteleri ve enfeksiyonu şiddetlendirmelerine ve tedavisini zorlaştırmalarına olanak tanıyan çok sayıda virülans genine sahip olmalarıdır. Araştırma ayrıca bağışıklık tepkisinin bakteriyel enfeksiyonların patojenitesini azaltmada kayda değer bir rol oynadığını göstermiştir. Bunun nedeni, bağışıklık tepkisinin, yüksek düzeyde virülans ve ilaçlara direnç gösteren izolatların üstesinden gelmede yardımcı olan bir teknik olarak kullanılabilmesidir.

**2024, 102 sayfa**

**ANAHTAR KELİMELER:** Antibiyotik direnci, Biyofilm, *Pseudomonas aeruginosa*, Yanık, Yara enfeksiyonu, Virülans genleri

## ABSTRACT

PhD Thesis

### MOLECULAR AND IMMUNOLOGICAL STUDY OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLATED FROM WOUND AND BURN INFECTED PATIENTS IN BAGHDAD GOVERNMENT

Mohammed Abdaljabbar Ahmed AHMED

Çankırı Karatekin University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Advisor: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN  
Co-Advisor: Prof. Dr. Amran Mezher LAWAS

*Pseudomonas aeruginosa* is an important bacterium that opportunistically infects individuals with weakened immune systems, especially those with severe burns, wound infections and similar conditions. It is known to be resistant to various drugs. These bacteria have a high degree of tolerance to unfavorable environmental conditions and can withstand a wide spectrum of temperatures. In addition to its natural resistance to various disinfectants and antibiotics, this organism has the capacity to acquire genes that confer resistance and other variants that increase the potential to cause disease and initiate infection as the bacterial population grows. Burns and wounds are defined as serious traumatic injuries to the skin that penetrate the integumentary system, weaken the immune system, prolong hospitalization and ultimately increase the likelihood of infection while in hospital. Burn and wound infections can lead to sepsis and death, often because of imprudent administration of systemic antibiotics. Interventions such as surgical debridement and skin grafting create ideal conditions for the establishment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the community. This has a significant impact on the limited treatment options. The pathogenicity of the bacterium is entirely dependent on virulence factors, which can be categorized into components associated with acute and chronic infection. Many studies have shown that certain virulence factors play an important role in *Pseudomonas aeruginosa* infections, especially in burn and wound infections. This study included 250 patients with burn and wound infections admitted to various hospitals in Baghdad, Iraq. In addition, a control group of 76 healthy individuals was also included for immunological control. Isolates were cultured and identified using blood and MacConkey agar as well as a series of biochemical tests. The VITEK-2 compact system was used to determine the confirmatory diagnosis and antibiotic resistance profile. The biofilm forming capacity of the isolates was tested by quantitative Microtiter plate technique. Conventional polymerase chain reaction was performed to identify all virulence genes. Enzyme-linked immunosorbent assay method was used to evaluate blood levels of interleukins -1 and 22 in both infected and healthy control groups. The highest frequency of bacterial isolates was obtained from 15-30 age group with 32.9%, followed by 31-50 age group with 26.3%, 51-70 age group with 19.7%

and >70 age group with 14.5%. The lowest bacterial frequency was obtained from the <15 age group with 6.6%, and when analyzed by gender, a higher frequency was observed in females (60.5%) compared to males (39.5%). Bacterial isolates collected from burn samples (51.3%) were higher than bacterial isolates collected from wounds (48.7%). Of the 76 bacterial isolates, 46.1% had strong biofilm forming capacity, 27.6% had moderate biofilm forming capacity and 18.4% had weak biofilm forming capacity. On the other hand, 7.9% were not capable of biofilm formation. The highest resistance rate among bacterial isolates was observed against Cefotaxime (78.95%), followed by Norfloxacin (69.74%). The medium resistance rate was observed against Cefepime (51.32%), followed by Ceftazidime (50%) and Piprasilin-Tazobactam (48.68%). On the other hand, the lowest resistance rates were to Ciprofloxacin (39.47%), Gentamicin (36.84%), Imipenem and Meropenem (35.53%), respectively. In addition, the lowest resistance rate was observed against Amikacin (34.21%). The prevalence of virulence genes among the bacterial isolates was high and ranked as algD (90.79%), plcH (59%), plcN (76.32%), LasB (77.63%) and exoS (73.68%). In immunological terms, the mean IL-1 and IL-22 serum levels of the patients infected with *P. aeruginosa* ( $5.235 \pm 1.160$  and  $30.93 \pm 4.289$  pg/mL, respectively) were higher than the control group ( $3.838 \pm 1.050$  and  $23.39 \pm 4.243$  pg/mL, respectively). In addition, there was a statistically significant difference between both study groups in terms of IL-1 and IL-22 serum levels ( $p$  value < 0.0001). In conclusion, the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* plays a unique role in nosocomial infections, especially in burn and wound cases. This is because they show a wide spectrum of resistance to antibiotics, as well as their capacity to form biofilms and possess many virulence genes that allow them to exacerbate infection and make it difficult to treat. Research has also shown that the immune response plays a notable role in reducing the pathogenicity of bacterial infections. This is because the immune response can be used as a technique to help overcome isolates that show high levels of virulence and resistance to drugs.

**2024, 102 pages**

**Keywords:** Antibiotic resistance, Biofilm, *Pseudomonas aeruginosa*, Burn, Wound infection, Virulence genes

## **ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR**

Tez danışmanım Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN'a sabrı, rehberliği ve anlayışı için teşekkür ederim.

**Mohammed Abdaljabbar Ahmed AHMED**

**Çankırı, Haziran 2024**



## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	i
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
SİMGELER DİZİNİ .....	vii
KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	5
2.1 <i>Pseudomonas</i> Cinsi.....	5
2.2 Genel Özellikler .....	5
2.3 Epidemiyolojisi .....	6
2.4 <i>P. aeruginosa</i> Enfeksiyonuna Bağlı Hastalıklar .....	7
2.4.1 Hastane kaynaklı pnömoni .....	7
2.4.2 Kistik fibroz.....	8
2.4.3 İdrar yolu enfeksiyonları .....	8
2.4.4 Kan dolaşımı enfeksiyonları .....	9
2.4.5 Bronşektazi.....	9
2.4.6 Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda enfeksiyonlar.....	9
2.5 Virülans Faktörleri .....	10
2.5.1 Bakteri yüzeyinin uzantıları .....	11
2.5.2 Dış zarın bileşenleri .....	12
2.5.3 Salgı sistemleri .....	12
2.5.4 Ekzopolisakaritler.....	13
2.5.5 Sideroforlar .....	13
2.5.6 Proteazlar .....	14
2.5.7 Toksinler .....	14
2.6 <i>P. aeruginosa</i> 'ya Karşı Bağışıklık Tepkisi .....	16
2.7 Çekirdek Algılama ve Biyofilm Oluşumu .....	18

2.8 Antibiyotik Direnci .....	19
2.9 Antibiyotik Direnç Mekanizmaları .....	20
2.9.1 İçsel mekanizma.....	20
2.9.2 Edinilmiş antibiyotik direnci .....	23
2.9.3 Adaptif antibiyotik direnci .....	25
3. MATERYAL VE METOT .....	29
3.1 Materyal .....	29
3.1.1 Aletler ve ekipmanlar .....	29
3.1.2 Kültürel ortamlar .....	29
3.1.3 Kimyasal ve biyolojik malzemeler .....	30
3.1.4 Kitler .....	30
3.1.5 Primerler .....	31
3.2 Yöntem .....	31
3.2.1 Çalışma tasarımı .....	31
3.2.2 Numune toplama.....	32
3.2.3 Bakteri izolasyonu .....	32
3.2.4 Biyokimyasal testler kullanılarak bakteriyel izolatların tanımlanması .....	32
3.2.5 Otomatik VITEK-2 sistemi kullanılarak tanımlamanın doğrulanması ve antibiyotik duyarlılık testi .....	35
3.2.6 Bakteri izolatlarının biyofilm oluşturma yeteneğinin mikrotitre plak yöntemi kullanılarak belirlenmesi .....	35
3.2.7 Bakteri izolatlarının saklanması .....	36
3.2.8 Moleküler çalışma.....	37
3.2.9 İmmünolojik çalışma .....	40
3.3 İstatistiksel Analiz .....	43
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	44
4.1 Hastaların Demografik Özellikleri .....	44
4.1.1 Bakteri izolatlarının yaş gruplarına göre sıklığı.....	44
4.1.2 Bakteri izolatlarının cinsiyet gruplarına göre sıklığı .....	45
4.2 Bakteri İzolatlarının Kültür ve Biyokimyasal İncelemeleri.....	47
4.2.1 Kültür ortamında bakteri kolonileri.....	47
4.2.2 Bakteri izolatlarının biyokimyasal özellikleri .....	48
4.3 Enfeksiyon Bölgesine Göre Bakteriyel İzolatların Sıklığı .....	53

<b>4.4 Bakteri İzolatlarının Biyofilm Oluşturma Kapasitesi .....</b>	<b>55</b>
<b>4.5 Antibiyotik Duyarlılık Profili.....</b>	<b>58</b>
<b>4.6 Virülans Genlerinin Sıklığı .....</b>	<b>61</b>
<b>4.7 Numune Türlerine Göre Biyofilm Oluşturma Kapasitesi.....</b>	<b>66</b>
<b>4.8 İnterlökin-1 (IL-1) Serum Seviyeleri.....</b>	<b>68</b>
<b>4.9 İnterlökin-22 (IL-22) Serum Seviyeleri.....</b>	<b>69</b>
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>72</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>74</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>102</b>



## SİMGELER DİZİNİ

±	Artı, eksi
°C	Derece santigrat
g	Gram
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
pg	Pikogram
%	Yüzde



## KISALTMALAR DİZİNİ

AprA	Alkalın proteaz
bp	Baz çifti
DNA	Deoksiribonükleik asit
OMPs	Dış zar proteinleri
ExlA	Ekzolisın A
ELISA	Enzime bağlı immünosorbent testi
PLC	Fosfolipaz C
ESPL	Genişletilmiş spektrumlu beta laktamazlar
HAP	Hastane kökenli pnömoni
Hcp	Hemolizin çekirdek düzenlenmiş protein
IFN- $\gamma$	İnterferon-gamma
İYE	İdrar yolu enfeksiyonu
IgA	İmmüoglobulin A
IgG	İmmüoglobulin G
BSIs	Kan dolaşımı enfeksiyonları
CF	Kistik fibroz
LipA	Lipaz A
LPS	Lipopolisakkarit
LoxA	Lipoksijenaz
NLRs	Nod benzeri reseptörler
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
ROS	Reaktif oksijen türleri
T reg cell	T düzenleyici hücre
T1SS	Tip 1 sekresyon sistemi”
T2SS	Tip 2 sekresyon sistemi”
T3SS	Tip 3 sekresyon sistemi”
T5SS	Tip 5 sekresyon sistemi”
T6SS	Tip 6 sekresyon sistemi”
TLRs	Toll benzeri reseptörler
Th1	T yardımcı 1
Th2	T yardımcı 2
Th17	T yardımcı 17
VAP	Ventilatörle ilişkili pnömoni
ICUs	Yoğun bakım üniteleri

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	<i>P. aeruginosa</i> izolatlarının dış morfolojisi (CDC 2018).....	6
Şekil 2.2	<i>P. aeruginosa</i> 'nın virülans faktörleri (Liao <i>et al.</i> 2022).....	11
Şekil 2.3	Yatay olarak gen aktarımının mekanizmaları (Mutuku <i>et al.</i> 2022).....	25
Şekil 2.4	Biyofilmin aracılık ettiği antibiyotik direncinin mekanizması (Pang <i>et al.</i> 2019).....	27
Şekil 3.1	IL-1 ve IL-22 ELISA kitinin prensibi.....	41
Şekil 3.2	IL-1 standart eğrisi.....	42
Şekil 3.3	IL-22 standart eğrisi.....	43
Şekil 4.1	Hastaların yaş gruplarına göre bakteri sıklığı.....	45
Şekil 4.2	Hastanın cinsiyet dağılımına göre bakteri sıklığı.....	46
Şekil 4.3	MacConkey ve Kanlı agarlardaki bakteri izolatları kolonileri.....	48
Şekil 4.4	Oksidaz testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri.....	49
Şekil 4.5	Katalaz testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri.....	49
Şekil 4.6	İndol testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri.....	50
Şekil 4.7	Voges Proskauer testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri.....	50
Şekil 4.8	Metil kırmızısı testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri.....	51
Şekil 4.9	Üçlü şeker demir testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri.....	51
Şekil 4.10	Üreaz testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri.....	52
Şekil 4.11	Sitrat testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri.....	52
Şekil 4.12	Numune türlerine göre bakteri sıklığı.....	54
Şekil 4.13	Biyofilm oluşumunun bakteriyel yeteneği.....	56
Şekil 4.14	Mikrotitre plakasında biyofilm oluşumunun konsantrasyonu.....	56
Şekil 4.15	Bakteriyel izolatların duyarlılık- direnç profili.....	59
Şekil 4.16	Bakteriyel izolatlar arasında virülans gen frekansı.....	61
Şekil 4.17	Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak amplifikasyondan sonra 608 bp boyutlu <i>pclH</i> gen fragmanları.....	62
Şekil 4.18	Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak amplifikasyondan sonra 444 bp boyutlu <i>ExoS</i> gen fragmanları.....	62
Şekil 4.19	Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak amplifikasyondan sonra 284 bp boyutlu <i>LasB</i> gen fragmanları.....	63
Şekil 4.20	Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak amplifikasyondan sonra 481 bp boyutlu <i>PlcN</i> gen fragmanları.....	63
Şekil 4.21	Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak amplifikasyondan sonra 313 bp boyutlu <i>AlgD</i> gen fragmanları.....	64
Şekil 4.22	IL-1 serum seviyeleri.....	69
Şekil 4.23	IL-22 serum seviyeleri.....	70

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Çalışmada kullanılan alet ve ekipmanlar .....	29
Çizelge 3.2	Çalışmada kullanılan kültürel ortamlar.....	30
Çizelge 3.3	Çalışmada kullanılan biyolojik ve kimyasal malzemeler .....	30
Çizelge 3.4	Çalışmada kullanılan kitler .....	31
Çizelge 3.5	Çalışmada kullanılan primerler.....	31
Çizelge 3.6	DNA ekstraksiyon kiti bileşenleri.....	37
Çizelge 3.7	PCR reaktifleri .....	39
Çizelge 3.8	Genlerin PCR protokolü amplifikasyonu .....	39
Çizelge 4.1	Hastaların yaş aralığı .....	44
Çizelge 4.2	Hastaların yaş gruplarına göre bakteri sıklığı .....	44
Çizelge 4.3	Hastanın cinsiyet dağılımına göre bakteri sıklığı .....	45
Çizelge 4.4	Numune türlerine göre bakteri sıklığı.....	53
Çizelge 4.5	Biyofilm oluşumunun bakteriyel yeteneği.....	55
Çizelge 4.6	Bakteriyel izolatların duyarlılık-direnç profili.....	58
Çizelge 4.7	Bakteriyel izolatlar arasında virülans gen frekansı.....	61
Çizelge 4.8	Yara ve yanık örneklerine göre biyofilm oluşumu .....	66
Çizelge 4.9	IL-1 serum seviyeleri .....	68
Çizelge 4.10	IL-22 serum seviyeleri .....	69

## 1. GİRİŞ

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), genellikle hastanelerde edinilen enfeksiyonlar, bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde görülen enfeksiyonlar ve kistik fibrozis gibi yapısal akciğer hastalıkları olan kişilerde görülen kronik enfeksiyonlarla ilişkili olan Gram-negatif bir bakteridir. Sağlık hizmetleriyle ilişkili tüm hastalıklarla ilgili olarak, *P. aeruginosa*'nın yüzde yedi oranında görüldüğü değerlendirilmektedir (Magill *et al.* 2014). *P. aeruginosa*, nozokomiyal pnömonide en yüksek prevalansa sahip patojen olup, pnömoni bu patojen tarafından tetiklenen enfeksiyonun en sık görüldüğü yerdir. Son on yıl boyunca prevalansında bir artış olmuştur (Williams *et al.* 2010). *P. aeruginosa*, özellikle kritik bakım ünitelerinde tedavi gören hastalar arasında diğer hastalara kıyasla daha yüksek oranda sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyondan sorumludur. Bu özel bakteri, hastalarda tespit edilen tüm enfeksiyonların yüzde 16,2'sinin sebebidir ve yoğun bakım ünitesinde meydana gelen tüm enfeksiyonların yüzde 23'ünün kaynağıdır (Vincent *et al.* 2020). Hastanelerde ortaya çıkan idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE), özellikle de kateterle ilişkili İYE'lerin ana nedenidir. Aynı zamanda yüksek morbidite ve mortalite oranları ile bağlantılıdır, buna ek olarak bakteriyemi de olası bir sonuçtur (Kitagawa *et al.* 2019). *P. aeruginosa* ile her yıl meydana gelen cerrahi alan enfeksiyonları arasında güçlü bir ilişki vardır (Elgohari *et al.* 2017). Araştırmalara göre, yanık yarası olan hastaların nemli ortamının, bu bakterinin yanık hastalarını tercih etmesine katkıda bulunan bir faktör olduğu düşünülmektedir. Bu bakterinin yanık hastalarında komplikasyonlara neden olduğu ve önemli bir patojen olduğu bilinmektedir. Yanık yarası olan hastalarda. Ayrıca sepsis ve ölümlerle de bağlantılıdır (Norbury *et al.* 2016). Tahminlere göre, *P. aeruginosa*'nın neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonları (BSI) önemli morbidite ve ölüm oranları ile bağlantılıdır (Thaden *et al.* 2017).

*P. aeruginosa*, konakçılardaki elverişsiz koşullara uyum sağlama kapasitesinin bir sonucu olarak, enfeksiyona yardımcı olmada ve hastalık oluşturmada rol oynayan çok çeşitli virülans faktörlerini serbest bırakabilmektedir (Qin *et al.* 2022). Lipopolisakkarit (LPS) dış tabakada önemli bir bileşendir ve konakçı hücrelere zarar verir. LPS içindeki lipid A'nın endotoksitesisi, dokunun zarar görmesini ve yapışmayı sağlar, ayrıca konak

reseptörleri tarafından hızlı bir şekilde tanımlanır (Gnauck *et al.* 2016). Ayrıca, dış membran proteinleri (OMP'ler) besin akışını kolaylaştırmada, yapışmayı teşvik etmede ve antibiyotik direnci kazandırmada rol oynar (Sabnis *et al.* 2021). Ayrıca, kemoatraktörlerin sinyallerine tepki olarak konak kolonizasyonunda, yapışmada, yüzmede ve sürü oluşturmada önemli bir rol oynayan altı farklı salgı sistemi vardır. Buna ek olarak, ekzopolisakkaritler mikropların ortadan kaldırılmasını engellerken biyofilmlerin oluşturulmasına yardımcı olabilir (Ozer *et al.* 2021). Sitotoksinlerin enjeksiyonu sırasında, tip-3 salgı sistemi, konağın savunma mekanizmalarının yeteneklerini engelleme potansiyeline sahip karmaşık bir sistemdir. Bu sitotoksinler, esas olarak fagositozu ve mikropların uzaklaştırılmasını engelleyerek hücrelerin iç ortamı üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bu onların birincil etki mekanizmasıdır. Ekzotoksin A, ADP ribozilasyon sürecine katılımı sayesinde konakçıda protein üretimini engelleyebilmektedir (Yang *et al.* 2022). Pyocyanin genellikle konakçılar için toksiktir, bu da hastalığın şiddetinde artışa, konak dokusunda tahribata ve maruz kalma noktasında organ işlevinin azalmasına neden olur (Alatraktchi *et al.* 2020). Ayrıca, elastazlar, alkalik proteaz lipazlar, fosfolipaz C ve esteraz A enzimlerini içeren önemli bir litik enzim kümesi, bir dizi virülans faktörünün düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Chadha *et al.* 2022). Ayrıca, ramnolipidlerin akciğer sürfaktan bozulması ve sıkı bağlantı yıkımı üzerindeki etkisi, trakea veya akciğer epitel hücrelerine doğrudan zarar verebilir (Zhao *et al.* 2021). Buna ek olarak, sideroforlar, demir eksikliği olan ortamlarda bakterilerin hayatta kalmasına yardımcı olan ve dolayısıyla patojenitelerini artıran demir edinme mekanizmaları olarak hizmet eder (Perraud *et al.* 2022). Antioksidan enzimler, eliminasyonu önlemek için fagosit ortamlarında reaktif oksijen türlerinin etkilerine karşı koyar (Dar *et al.* 2021). *P. aeruginosa* bakterisinin çok sayıda farklı antimikrobiyal ajana karşı doğal bir direnç geliştirdiği ve şu anda mevcut olan etkili ilaçların neredeyse tümüne karşı direnç geliştirme potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir. Antibiyotiklere karşı sınırlı duyarlılıkları ve tedavi sırasında direnç kazanma konusundaki önemli eğilimleri nedeniyle, bu bakterinin neden olduğu enfeksiyonlar son derece şiddetli ve hatta bazı durumlarda ölümcüldür. Ayrıca, tedavi edilmeleri sorunlu olduğu için iyileştirilmeleri de zordur. Direnç mekanizmaları, geniş spektrumlu laktamazların yanı sıra antibiyotik aktivitesini değiştiren diğer enzimlerin edinilmesini içerir. Mutasyonel değişiklikler, antibiyotik reseptörlerindeki varyasyonlar, dış koruyucu membranın geçirgenliğindeki

değişiklikler ve amp C'nin inhibisyonu dahil olmak üzere çoklu ilaç eflüks pompalarının varlığı için bir dizi olası açıklama vardır (Dash *et al.* 2014). *P. aeruginosa* arasında çoklu ilaç direncinin yayılması, özellikle yoğun bakım ünitesine yatırılan hastalar başta olmak üzere sağlık hizmeti ile ilişkili hastalıkları olan hastalarda görüldüğünde, enfeksiyonların ortaya çıkmasında önemli bir sorundur (Gad *et al.* 2007). *P. aeruginosa*, tip IV pili ve flagellumunu kullanarak enfeksiyonun akut fazı sırasında solunum epiteline bağlanma potansiyeline sahiptir. Buna ek olarak, bakteri konak akciğer hücrelerine zararlı toksinler salgılar. Bu da hücre dışı bir matrisin salınmasına yol açarak sonuçta bir biyofilmin oluşmasına neden olur. Bu biyofilm, hücre dışı maddeden oluşan bir matris tarafından sarılmış bakteri hücrelerinden oluşan ve kendisini solunum epiteline bağlayan yapısal bir çerçeveden oluşur (Guilbaud *et al.* 2017). Bakteriler, biyofilm oluşumunun bir sonucu olarak iş birliği yapabilir ve kendilerini nötrofillerin fagositozundan ve antibiyotiklerden koruyabilir (Klausen *et al.* 2003). İlk biyofilm oluşturulduktan sonra, bazı bakteriler ayrılıp akciğerin diğer bölgelerine yayılarak enfeksiyona neden olma yeteneğine sahiptir. Biyofilm gelişimi, bu bakterinin daha kalın hava yolu mukusu içinde bir biyofilm oluşturduğu ve nadiren hücre yüzeylerine hareket etmeye ihtiyaç duyduğu kronik akciğer hastalığından muzdarip bireylerin akciğerlerinde de gerçekleşebilir. Kronik enfeksiyonda *P. aeruginosa*, uzantılarını döktükleri ve genetik değişikliklere uğradıkları bir süreçten geçerek aljinat senteziyle ayırt edilen mukoid bir fenotiple sonuçlanacaktır. Bu dönüşüm, bakterinin kalıcı ve uzun süreli bir enfeksiyon oluşturmasını sağlar (Guilbaud *et al.* 2017). Aljinat, *P. aeruginosa*'nın mukoid fenotip özelliğinin oluşumu için çok önemli olan bir ekzopolisakkarittir. Sentezi *P. aeruginosa*'dan ekspresyon ile teşvik edilir. Aşırı aljinat sentezinin mikrop için birçok avantajı vardır. Bunlar arasında, bakteriyi konağın bağışıklık hücreleri tarafından ortadan kaldırılmaktan koruyan biyofilmler oluşturma yeteneği de yer almaktadır. Ek olarak, aşırı aljinat üretimi mikrobu antimikrobiyal tedaviye direnç göstermesine yardımcı olur. Ayrıca, konağın enfeksiyona karşı immünolojik tepkisini engelleyebilecek immünomodülatör etkilere sahiptir (Rasamiravaka *et al.* 2015). Çekirdek algılama, bakterinin gen ifadesini kontrol etmesini sağlayan bir iletişim mekanizmasıdır ve mikropların bir enfeksiyon sırasında konakçıya karşı eylemlerini organize etmelerini sağlar. *P. aeruginosa*, hem bakteri hem de konak hücrelerine nüfuz eden ve bakterinin hayatta kalmasını destekleyen ve enfeksiyona karşı

immünolojik yanıtı azaltan gen ifadesinin kontrolüyle sonuçlanan çekirdek algılama için birçok farklı yola sahiptir (Cherny and Sauer 2019).

Bu çalışmada, Yara ve yanık enfeksiyonu geçiren hastalarda *P. aeruginosa* izolasyonu ve identifikasyonu, Yara ve yanık enfeksiyonlarında *P. aeruginosa* izolatlarının sıklığının değerlendirilmesi, *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşturma yeteneğinin araştırılması, *P. aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılık özelliklerinin belirlenmesi, *P. aeruginosa*'nın virülans genlerinin moleküler olarak tanımlanması ve serum interlökin-1 ve interlökin-1 düzeylerini tahmin edilmesi amaçlanmaktadır.



## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1 *Pseudomonas* Cinsi

*Pseudomonas*, geniş bir tür yelpazesi ile karakterize edilen ve gram-satin negatif bakteri grubuna ait olan son derece karmaşık bir bakteri cinsidir (Pessoa *et al.* 2019). *Pseudomonas* cinsi, doğrusal veya hafifçe bükülmüş ve bir ve/veya daha fazla polar flagellaya sahip Gram-negatif çubuklardan oluşur. Ek olarak, spor üretmez. Ayrıca, organik bileşiklerin oksidasyonu ile enerji elde eden bir canlıdır (Yadav *et al.* 2014). *Pseudomonas* grup I en büyük kategoridir ve hem floresan türleri hem de floresan olmayan türleri içerir (Scarpellini *et al.* 2004). *Pseudomonas* cinsi içindeki genetik değişkenlik, bu mikrop grubunun doğru bir şekilde tanımlanmasında zorluklara yol açmaktadır. Öte yandan, moleküler yöntemlerin ilerlemesi, biyokontrol niteliklerinden sorumlu olan süreçleri kanıtlayabilen ve bu mikroorganizmaların çevresel temizlik, bitki çürümesi ve patojenitede oynadığı işlevi anlayabilen yeni alternatif araçların yaratılmasıyla sonuçlanmıştır (Charan *et al.* 2011).

### 2.2 Genel Özellikler

*P. aeruginosa*, gram negatif grup olarak sınıflandırılan çubuk şeklinde bir bakteridir. Pozitif oksidaz reaksiyonu sergiler. Laktozu sindirememesine rağmen kanlı agarda beta hemolize neden olma kapasitesine sahiptir (Wu and Li 2015). Diğer bir özellik ise üzüm kokusuna benzer bir koku yayma yeteneğinin yanı sıra, 42°C'ye kadar yüksek sıcaklıklarda büyüyüp aynı zamanda mavi-yeşil bir pigment oluşturma yeteneğidir (Chemaly *et al.* 2014). *P. aeruginosa* genellikle doğal ortamında bağımsız olarak var olan bir bakteri olarak kabul edilir. Nozokomiyal enfeksiyon bunun köklü bir sonucudur (Williams *et al.* 2010). *P. aeruginosa*, hastaların hava yollarında uzun süre kolonize olma yeteneği nedeniyle sıklıkla çeşitli insan hastalıklarıyla ilişkilendirilir (McDermott 2016). Ek olarak, özellikle bağışıklık sistemi zayıf olanlarda zatürrenin yaygın bir nedeni olduğuna inanılmaktadır. Ayrıca ciddi yara enfeksiyonlarında ve yanıklarda da görülmektedir (Magill *et al.* 2014). İlaçlara dirençli genel *P. aeruginosa* suşlarının neden olduğu yara enfeksiyonları, tüm dünyada yüksek hastalık ve ölüm oranlarıyla

ilişkilendirilmiştir (Serra *et al.* 2015). Şekil 2.1 *P. aeruginosa*'nın dış morfolojisini göstermektedir.



Şekil 2.1 *P. aeruginosa* izolatlarının dış morfolojisi (CDC 2018)

### 2.3 Epidemiyolojisi

*P. aeruginosa* birçok habitatta gelişebilme yeteneğinden dolayı çok çeşitli insan hastalıklarına katkıda bulunabilir. Sindirim sisteminde bulunan normal bakterilerin bir parçası olması muhtemeldir. Dolayısıyla sağlık durumu iyi olanlarda enfeksiyona neden olmaz. Tersine, bağışıklık sistemi zayıflamış bireylerdeki fırsatlardan yararlanan bir bakteri konumundadır (Chemaly *et al.* 2014). Mikroorganizma, uyarlanabilir özellikleri ve güçlü hayatta kalma yeteneği sayesinde sağlık hizmeti ortamındaki cansız yüzeylerde 6 aya kadar varlığını sürdürebilir. Ayrıca klinik ortamlarda kullanılan yüzeyleri ve ekipmanlarda sıklıkla bulunurlar (Spagnolo *et al.* 2021). *P. aeruginosa*, kullanılan çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı dirence sahiptir (McDermott 2016). Ayrıca, birçok temizlik maddesi belirli dezenfektanlarda kalıcı olma özelliğine sahip olup bronkoskoplarda ve diğer cerrahi aletlerde kalmalarını sağlar (Kritsotakis *et al.* 2017). *P. aeruginosa*, septisemiden solunum cihazlarına bağlı pnömoniye kadar hastanelerde edinilen çok çeşitli enfeksiyonlarla bağlantılıdır (Afshari *et al.* 2012). Zatiürre bu durumun ikinci en

yaygın nedenidir, kan dolaşımı enfeksiyonu ise üçüncü en yaygın nedenidir. Ayrıca sağlık bakım ortamlarında edinilen tüm enfeksiyonların %10'undan fazlasından sorumludur (Hunter 2012). *P. aeruginosa*, birçok gelişmiş tıbbi tesiste kalırken hastalığa yakalanan bir grup hasta arasında 17 vakayla en yaygın ikinci patojen olarak yer alır. Çeşitli çalışmaların bulgularına göre, *P. aeruginosa*'ya bağlı kan dolaşımı enfeksiyonlarından kaynaklanan ölüm oranları, diğer çeşitli gram-pozitif mikropların oluşturduğu enfeksiyonlardan çok daha yüksektir (Carlet *et al.* 2007).

## **2.4 *P. aeruginosa* Enfeksiyonuna Bağlı Hastalıklar**

### **2.4.1 Hastane kaynaklı pnömoni**

Hastane ortamında gelişebilecek en sık ve potansiyel olarak yaşamı tehdit eden hastalığa hastane kökenli pnömoni denir. Sürekli nefes alan hastalar arasında en sık görülen "hastane kaynaklı enfeksiyon" olmakla birlikte, aynı zamanda kritik hastalarda genel olarak en sık görülen ikinci hastane kaynaklı hastalıktır (Kollef *et al.* 2014). Ventilasyon süresi iki günden fazla olan hastalarda "ventilatörle ilişkili pnömoni (VAP)" gelişme riski yüksektir (Zhou *et al.* 2010). Ventilasyon süresi sıklıkla VİP'ten sorumlu spesifik bakteri popülasyonunu etkiler. *P. aeruginosa*'nın neden olduğu VİP'e bağlı ölüm oranlarının diğer bakterilerin neden olduğu ölüm oranlarından daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Raineri *et al.* 2014). Trakeobronşiyal ağacın kolonizasyonu VİP insidansında çok önemli bir faktördür. Ventilasyon uygulanan ve trakealarında önemli miktarda *P. aeruginosa* bulunan hastaların ölüm olasılığı daha yüksektir (Luyt *et al.* 2018). *Pseudomonas* spp. HAP vakalarının yaklaşık %5'ini oluşturur. Ayrıca, gram-negatif VİP suşlarının toplam sayısının %33'ünü oluşturur (Leroy *et al.* 2005). Antibiyotiklerin koruyucu önlem olarak uygulanması ve 5 günden fazla süreyle belirli düzeyde ventilasyon gerekliliği, *P. aeruginosa*'nın neden olduğu VİP ile ilişkili iki önemli risk faktörüdür (Djordjevic *et al.* 2013). Kronik hastalıkları olan kişiler daha yüksek iç kolonizasyon riski altındadır ve özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış veya diğer kronik bozuklukları olan kişiler olmak üzere ciddi solunum yolu enfeksiyonları geliştirmeye daha yatkındırlar (Lange 2009).

#### 2.4.2 Kistik fibroz

*P. aeruginosa*, kistik fibrozlu bireylerde oldukça önemli bir patojen olan ve önemli sayıda hastalık ve ölüme neden olan bir mikroptur (Mogayzel *et al.* 2014). Akciğer fonksiyonunda azalma ile ilişkisi nedeniyle KF hastalarıyla ilişkili *P. aeruginosa*'nın derhal tedavi edilmesi için güçlü öneriler bulunmaktadır (Saiman *et al.* 2014). *P. aeruginosa*, sıklıkla oksijen eksikliği olan kistik fibrozis akciğeriyle ilişkili ortamda gelişmesini sağlayan genetik değişikliklerin yanı sıra mutasyonlar da kazanma yeteneğine sahiptir (Langan *et al.* 2015). Uzun süre devam eden *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına sıklıkla biyofilm oluşumu neden olur. Polisakkarit aljinatın üretiminin mukoid karaktere geçişle bağlantılı olduğu tespit edilmiştir. Bu spesifik enfeksiyonun akciğer fonksiyonunda bir azalma ve sonuçta ölüme bağlantılı olması nedeniyle, kistik fibrozlu kişilerde *P. aeruginosa*'nın hızlı tespiti ve tedavisi standart uygulama olarak kabul edilmektedir (Malhotra *et al.* 2019). *P. aeruginosa*'ya karşı uzun süreli tedavinin kullanılması ile KF tanısı alan kişilerde enfeksiyon görülme sıklığının azalması arasında önemli bir bağlantı vardır (Salsgiver *et al.* 2016).

#### 2.4.3 İdrar yolu enfeksiyonları

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE'ler), hastane kaynaklı enfeksiyonların sık görülen bir türüdür ve *P. aeruginosa* tüm İYE'lerin yaklaşık %10'undan sorumludur (Donlan 2001). *P. aeruginosa* tarafından üretilen bu enfeksiyonlar genellikle kateter yerleştirilmesi, üriner sistem ekipmanları ve cerrahi prosedürlerin bir sonucu olarak ortaya çıkar (Moss *et al.* 2002). İYE, bazen ölümcül olabilen ciddi glomerüler inflamasyona ve böbrek yetmezliğine neden olabilir. Kateterin implante edilmesi mukozal epitelyal membranların bozulmasına neden olabilir ve bu da bakteri üremesine sebep olur. *P. aeruginosa*, "idrar yolu enfeksiyonlarına" neden olan yaygın patojenlerden biri olarak kabul edilir ve dünya çapında oldukça yaygındır (Pachori *et al.* 2019).

#### 2.4.4 Kan dolaşımı enfeksiyonları

Bakteriyemi, yüksek ölüm oranlarıyla da bağlantılı, potansiyel olarak ölümcül bir hastalıktır. *P. aeruginosa* tarafından geliştirilen kan dolaşımı enfeksiyonlarının (KDE) görülme sıklığı son yıllarda oldukça artmıştır. Çok sayıda araştırma, BSI vakaları ile *P. aeruginosa* arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Solunum yolu ve santral venöz kateterlerin, KSE'lerin gelişmesinde yaygın olarak görülen yerler olduğu bulunmuştur (Buhl *et al.* 2015). *Pseudomonas* ile ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları, yoğun bakım ünitesindeki hassas hastalar için önemli bir risk oluşturmaktadır. Akciğer kanseri ve önceki antibiyotik tedavisi, *Pseudomonas* ile ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları için risk faktörleridir (Zilberberg *et al.* 2016). Septisemi, pnömoni, yanlış ve uzun süreli antibiyotik tedavisi ve ilaç direnci, KSE gelişimi için risk faktörleri olarak kabul edilir (Bjarnsholt *et al.* 2010).

#### 2.4.5 Bronşektazi

Bronşektazi, solunum yollarının kalınlığı ve genişlemesi ile karakterize edilen ve sonuçta solunum sisteminin kronik enfeksiyon ve iltihaplanma ile dolmasıyla sonuçlanan bir durumdur (Shoemark *et al.* 2007). Bronşektazili bireylerde keşfedilen başlıca patojen olan *P. aeruginosa*'nın varlığı ile akciğer fonksiyonlarında azalma ve ölüm oranlarında büyük artış arasında önemli bir korelasyon vardır (Woo *et al.* 2018). Hava yolu tıkanıklığı vakalarında *P. aeruginosa*'nın tedavisi, akciğer fonksiyonundaki azalmayı en aza indirmeyi amaçlayan şiddetle tavsiye edilen önlemleri içerir (Bilton 2008).

#### 2.4.6 Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda enfeksiyonlar

*Pseudomonas aeruginosa*, bağışıklık sistemi zayıf olanlar için son derece tehlikeli bir bakteridir ve nötropenisi olan hastalar çoğunlukla enfeksiyona karşı savunmasızdır. Hematolojik malignitesi olan hastaların *P. aeruginosa* enfeksiyonuna duyarlılığı daha yüksektir (Cattaneo *et al.* 2012). *P. aeruginosa*, hematolojik malignitesi olan bireylerde görülen en yaygın enfeksiyöz ajanların üçüncüsüdür. Önceki cerrahi prosedürler, azalmış

nötrofil sayısı, kortikosteroid kullanımı ve altta yatan tıbbi durumlar, *P. aeruginosa* enfeksiyonu olasılığını artıran önemli değişkenlerdir (Tofas *et al.* 2017). Organ nakli olmuş kişiler, diğer istenmeyen sonuçların yanı sıra *P. aeruginosa*'nın tetiklediği bir enfeksiyona yakalanmaya daha duyarlıdır. Organ nakli yapılan hastalarda *P. aeruginosa*'nın neden olduğu enfeksiyonlardan ölüm oranının %50'ye ulaştığı bildirilmektedir. Çoklu ilaç *P. aeruginosa* izolatları ile enfekte olan organ nakillerinde ve ölüm oranını yükseltmiştir. Enfeksiyon riski, organ nakillerinden hemen sonra en yüksek düzeyde olup tüm enfeksiyonların yaklaşık %55'i, nakilden sonraki üç ay içinde meydana gelir (Johnson *et al.* 2009).

## 2.5 Virülans Faktörleri

Virülans, patojenik mikropların konakçılarını enfekte etme ve semptomlar geliştirme kapasitesini tanımlamak için kullanılan terimdir. Bu yetenek, bakteriyel tutunmayı, kolonileşmeyi, doku istilasını ve tahribatını ve konağın bağışıklık tepkisinin baskılanmasını ve bundan kaçınma kapasitesini destekleyenler de dahil olmak üzere bir dizi değişkenle tanımlanabilir (Diggle and Whiteley 2020). *P. aeruginosa*'nın önemli virülans özellikleri Şekil 2.2'de gösterilmektedir.



immünolojik tepki ortaya çıkarma kapasitesine sahiptir (Campodónico *et al.* 2010). Flagellar antijen, bir hayvan modelinde başarılı bir şekilde savunma amaçlı bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkardı (Hassan *et al.* 2018).

### 2.5.2 Dış zarın bileşenleri

*Pseudomonas aeruginosa* çoğunlukla lipopolisakkaritten (LPS) oluşan bir dış zara sahiptir. Yapı, bir lipit A molekülünün yanı sıra oligosakaritlerin iç çekirdeği ve dış çekirdeğini ve bir O-antijenini içerir (Pier 2007). LPS, çeşitli sinyal iletim yolları yoluyla konakçıda güçlü bir immünolojik tepkiyi tetikleyen, mikropla ilişkili bir kimyasal model olarak kabul edilmektedir. LPS, bakterileri fagositler tarafından yutulmaktan korumak gibi paradoksal bir işlev sergilerken aynı zamanda nötrofilleri istilacı patojenleri yakalayabilen hücre dışı tuzaklar üretmeye teşvik eder (Huszczynski *et al.* 2019). *P. aeruginosa*'nın konakçı hücrelere yapışma sürecindeki önemli bir bileşen, LPS ile ökaryotik hücre zarları arasında meydana gelen etkileşimdir (Döring 2010).

### 2.5.3 Salgı sistemleri

Gram negatif bakterilerde “Tip 1 sekresyon sistemi (T1SS)” mevcuttur. Ancak bu mekanizma, inflamatuvar süreç boyunca *P. aeruginosa*'nın patojenitesine aktif olarak katkıda bulunur. T1SS, alkalın proteazların salgılanmasında, hem alım proteininde, demir tüketiminde rol oynar ve bakterinin gelişimi için önemlidir (Bleves *et al.* 2010). “Tip 2 salgı sistemi (T2SS)”, çeşitli enfeksiyonla ilişkili eylemlerle ilişkili önemli hücre dışı toksinlerin salınmasından sorumludur (Proctor *et al.* 2021). “Tip 3 Salgı Sistemi (T3SS)”, iğne kompleksi, efektörler ve şaperonların yanı sıra düzenleyici proteinlerden oluşan virülansın önemli bir bileşenidir (Sato and Frank 2011). İğne kompleksinin translokonu yüzeyden dışarı çıkar ve efektör proteinleri konakçı hücrelere iletmek, bakteri istilasını teşvik etmek ve sitotoksositeye neden olmak için bir "moleküler enjektör" görevi görür. T3SS şaperonları, karşılık gelen ortaklarının salınmasını veya birleşmesini kolaylaştıran proteinlerdir (Horna and Ruiz 2021a). T3SS, bakteriyel penetrasyonu ve konakçıya girişi kolaylaştırır ve önemli ölçüde gelişmiş semptomlar ve enfeksiyonların şiddeti artar. T3SS efektörlerindeki mutasyonlar bakterilerin patojenitesini önemli ölçüde azaltabilir veya

tamamen ortadan kaldırabilir (Liao *et al.* 2022). “Tip 5 salgı sistemi (T5SS)” iki tip partnerden oluşur ve virülans, patojenite ve adezyonda rol oynayan çeşitli proteinlerin salgılanmasından sorumludur (Ma *et al.* 2020). Bu proteinler, rhamnolipidlerin artan ekspresyonunu uyarır, bu da biyofilm gelişiminin artmasına, konakçının bağışıklık sisteminin kaçmasına ve bakteriyel yapışmanın artmasına neden olur (Henderson *et al.* 2004). Üstelik besinlerin sağlanmasında en büyük rolü oynarlar (Hood *et al.* 2010). *P. aeruginosa*, üç farklı “Tip 6 salgılama sistemine (T6SS)” ve hemolizin (Hcp) çekirdek düzenlemeli proteinin salgılanmasından sorumlu adalara sahiptir (Basler *et al.* 2013). Tip T6SS'nin bakteriyolitik efektörleri, rakip bakterilerin peptidoglikan hücre zarını çözme kapasitesine sahiptir ve ayrıca enfekte hücrelerde bakteriyel endositozu indüklemeye potansiyeline sahiptir (Bleves 2016).

#### **2.5.4 Ekzopolisakaritler**

*Pseudomonas aeruginosa*, kuraklık, oksidatif araçlar ve konakçı bağışıklık tepkileri gibi zorlu çevresel faktörlere karşı direncini arttırmak için şeker türevli hücre dışı makromoleküller olan ekzopolisakaritleri sentezler (Franklin *et al.* 2011). Ekzopolisakaritler, biyofilmlerin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün korunması için gerekli olan hücre dışı polimerik bileşiklerin temel elementlerinden biridir. Ayrıca biyofilmlerin temel unsurlarından biri oldukları için biyofilmlerin oluşumunda önemli rol oynarlar. Buna ek olarak ekzopolisakaritler, bakterilerin çevrede kalabileceği süreyi uzatmalarına olanak tanıyan adezin görevi görme yeteneğine de sahiptir (Ellis and Kuehn 2010). *P. aeruginosa*'nın bugüne kadar KF hastalarından elde edilen izolatlar tarafından üretilen aljinat ve çevreden toplanan izolatlar tarafından üretilen Pel ile birlikte Psl olmak üzere üç farklı ekzopolisakariti sentezlediği gösterilmiştir (Loos *et al.* 2019).

#### **2.5.5 Sideroforlar**

Sideroforlar, demire bağlanma ve onunla stabil kompleksler oluşturma yeteneğine sahip kimyasal ajanlardır. Bakteriler demir birikimine karşı koymanın bir yolu olarak sideroforları sentezler. "Pyoverdin (Pvd) ve pyochelin (Pch)"nin her ikisi de *P. aeruginosa* tarafından üretilmektedir (Cornelis 2010). Pvd, demire karşı güçlü bir çekime

sahip olan bir floresan peptid olarak kabul edilirken, Pch, demire karşı nispeten daha az çekime sahip bir yan foradır. Hem Pvd hem de Pch, *P. aeruginosa*'nın tam patojenitesi açısından çok önemlidir. Her ikisi de laktoferrine ek olarak transferrinden demiri (Fe 3+) şelatlama kapasitesine sahiptir, böylece bakterilerin büyümesini destekler (Sass *et al.* 2020). Güçlü demir şelatörleri mevcut olmasına rağmen, bakteriler piyoverdin yerine piyochelin üretebilmektedir. Bu, *P. aeruginosa*'nın geliştiği ve demirin etrafında merkezlenen spesifik ortamda piyochelin performansının kritik rolünü göstermektedir (Pan *et al.* 2022).

### 2.5.6 Proteazlar

Alkalin proteaz (AprA) öncelikle bir çekirdek algılama yolu tarafından kontrol edilir ve T1SS yoluyla salgılanır (Bleves *et al.* 2010). AprA, tamamlayıcı bileşenleri, interferon-gamayı ve tümör-nekroz faktörü-alfayı parçalama yeteneğine sahiptir (Matsumoto *et al.* 1998). *P. aeruginosa*, akciğer dokusunun yanı sıra kan damarlarındaki elastini parçalamak için elastaz A ve elastaz B enzimlerini salgılar, bu da akciğer dokusunun kaybına ve ardından akciğerde kanamanın gelişmesine neden olur (Bradshaw *et al.* 2018). Bir enzim olan proteaz tip IV, konak dokularında hasara neden olur ve kompleman sisteminin bileşenleri, antikorlar ve yüzey aktif madde proteinleri dahil olmak üzere birçok önemli biyolojik molekülü parçalayarak bakteriyel enfeksiyonu artırır (O'Callaghan *et al.* 2019).

### 2.5.7 Toksinler

*Pseudomonas aeruginosa* “ExoS, ExoT, ExoU ve ExoY” olmak üzere dört ekzotoksin salgılar. Hem ExoS hem de ExoT, konakçı hücrelerde apoptozu indüklemeye ve konağın aktin hücre iskeletini bozma yeteneğine sahiptir. ExoU, hızlı nekrotik hücre ölümünü tetikleyen güçlü bir fosfolipazdır (Horna and Ruiz 2021b). ExoS üreten izolatlarla enfekte olan hastalar, olumsuz sonuçlar yaşamaya daha yatkınken, ExoU üreten izolatlarla enfekte olan hastalar sıklıkla antibiyotik tedavisine direnç geliştirir (Horna *et al.* 2019). Ekzolisin (ExlA) olarak bilinen gözenek oluşturucu toksin, plazma zarının geçirgenliğini artırarak nekrotik hücre ölümüyle sonuçlanır (Elsen *et al.* 2014). Ekzotoksin A (EA),

programlanmış hücre ölümünü (apoptoz) tetikleyen ve konakçı organizmadaki protein sentezini engelleyen, hücrelerin dışında üretilen çok toksik bir maddedir (Michalska and Wolf 2015). Lipaz A (LipA), ana akciğer yüzey aktif maddesi lipidinin ve konakçı hücre zarlarının bozulmasından sorumludur ve doku hasarına yol açar (Zhang and Zhang 2021). LipA, elektrostatik etkileşimler yoluyla biyofilm hücre dışı matris içindeki aljinata müdahale eder, dolayısıyla bakteriyel antibiyotik direncinin gelişimini destekler (Viegas *et al.* 2020).

*P. aeruginosa*, hemolitik ve hemolitik olmayan iki farklı kategoride fosfolipaz C (PLC) enzimi üretme yeteneğine. Hemolitik fosfolipaz C (PLC), kan damarlarının geçirgenliğinin artmasına ve konakçıda organ hasarına neden olur (Vasil *et al.* 1991). Küçük miktarlarda bile, hemolitik PLC interlökin-8'in aşırı salınımına neden olabilir, bu da nötrofillerin toplanmasının artmasına neden olur ve akciğerlerde iltihaplanma ve yaralanmaya katkıda bulunur. Ayrıca hemolitik PLC, bir protein kinaz C ile etkileşerek nötrofil solunum patlamasını baskılar. Bu, *P. aeruginosa*'nın immünolojik bir ortamda hayatta kalmasına yardımcı olur ve uzun süreli bir bakteriyel enfeksiyona neden olur. Bu, hemolitik PLC'nin bir protein kinaz C ile etkileşimi ile gerçekleştirilir (Monturiol-Gross *et al.* 2021). Lipoksijenaz (LoxA), konakçıda lipit sinyalini bozabilir. *P. aeruginosa*'nın akciğer enfeksiyonu sırasında LoxA, konakçıda birçok çoklu doymamış yağ asidini oksitleyerek lipoksin A4'ün oluşmasına neden olur. Bu da konakçı hücrelerde hasara yol açar (Lu *et al.* 2020). Ek olarak LoxA, kemokin sentezini inhibe etme yeteneğine sahiptir, dolayısıyla bağışıklık hücrelerinin uyarılmasını engeller (Aldrovandi *et al.* 2018). *P. aeruginosa* ayrıca lökositlerin plazma zarının şişmesine ve geçirgenliğinin artmasına neden olan ve bunların yok olmasına yol açan sitotoksik bir madde olan lökositin'i de salgılar (Bouillot *et al.* 2020). Ayrıca lökositin, *P. aeruginosa* enfeksiyonuna karşı konağın bağışıklık tepkisini modüle etme kapasitesine sahiptir (Hirayama *et al.* 1983). Piyosiyenin (PCN), mavi renk tonu sergileyen ve redoks aktivitesine sahip biyolojik olarak aktif bir kimyasaldır (Lau *et al.* 2004). PCN'nin zwitteriyonik yapısı, konakçı hücrelerin plazma membranlarından geçmesini kolaylaştırır. Bu membranlar, PCN'nin indüklediği oksidatif stresin, konakçı hücreler üzerinde sahip olduğu sitotoksik etkilere yol açtığı yerdir (Hall *et al.* 2016).

## 2.6 *P. aeruginosa*'ya Karşı Bağışıklık Tepkisi

*Pseudomonas aeruginosa*, bakteriyel bileşenleri tespit eden Toll benzeri reseptörlerin (TLR) güçlü agonistlerini üretir. LPS'ye karşı TLR4'e bağlı inflamatuvar yanıt enfeksiyonların temizlenmesi için çok önemlidir (Lovewell *et al.* 2014). TLR4 ve TLR5, *P. aeruginosa*'ya karşı uygun bağışıklık tepkisi için çok önemlidir (Lin and Kazmierczak 2017). TLR4, LPS'yi tespit ederek iki ayrı inflamatuvar sitokin uyarılmasına neden olur (Dosunmu *et al.* 2017). Sıklıkla MyD88 olarak adlandırılan Myeloid farklılaşma 88, aktive edilmiş B hücrelerinin nükleer faktör kappanın hafif zincir gelişimini aktive etmekten sorumludur. Sonuç olarak bu, enflamasyonu teşvik eden çok çeşitli sitokinlerin ve kemokinlerin rollerine başlamasını mümkün kılar (Pang *et al.* 2018). MyD88'in katılımı, nötrofillerin enfeksiyon bölgesine hızlı bir şekilde istihdam edilmesi için çok önemlidir (Lavoie *et al.* 2011). *P. aeruginosa*, virülans faktörleri özellikle konak hücrelerin sitoplazmasını hedef alır ve bağışıklık hücrelerinde inflamazom adı verilen karmaşık sinyal platformlarının oluşumunu uyarır. İnflamazomlar, *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tanımlanmasında ve bunlara tepki verilmesinde önemli bir role sahiptir (Alhazmi 2018). *P. aeruginosa* ile enfekte olmuş insan makrofajları, inflamazomun oluşumunu tetikler ve bu da kaspaz-1'in yanı sıra IL-1 $\beta$  üretimini tetikler (McHugh *et al.* 2019). İnflamazom, *P. aeruginosa*'ya karşı doğuştan gelen immün yanıt sırasında, öncelikle flagellin ve T3SS proteinleri aracılığıyla tetiklenen önemli bir bileşen olarak kabul edilmiştir. *P. aeruginosa*, proteinler ve LPS vererek epitel hücrelerinde TLR'ye bağlı reaksiyonları indükleyen Nod benzeri reseptörleri (NLR'ler) uyarır. NLR'ler, enfeksiyon sırasında akciğerleri zarardan koruyabilecek terapötik adjuvan hedefler olma potansiyeline sahiptir. Ayrıca *P. aeruginosa* tarafından enfekte edilen hücrelerdeki inflamatuvar tepkileri azaltmak için ana odak noktası olabilirler. *P. aeruginosa* patojenle ilişkili moleküler kalıpların (PAMP'lar) tespiti, mikropların ortadan kaldırılmasına yardımcı olmak üzere nötrofillerin yanı sıra makrofajları çekmek için çok önemli olan güçlü bir inflamatuvar reaksiyonu tetikler (Lin and Kazmierczak 2017).

Nötrofiller *P. aeruginosa*'yı yok etme kapasitesine sahiptir, ancak reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ve asidofilik granüller olarak bilinen bileşenden bakterisidal proteinlerin boşaltılması yoluyla konağın akciğerlerine de zarar verebilirler (Skopelja-

Gardner *et al.* 2019). Bu nedenle, bir enfeksiyonun tedavisi sırasında komşu dokuya verilen zararı en aza indirirken patojenleri etkili bir şekilde ortadan kaldırmak için ideal bir nötrofil mobilizasyon seviyesine ulaşmak önemlidir. Akciğer söz konusu olduğunda, makrofajlar *P. aeruginosa* ile temas eden birincil hücrelerdir (Nakamura *et al.* 2016). Bakteriyel enfeksiyon sırasında efektör hücreler, nötrofillerin işe alımını ve uzun ömürlülüğünü modüle ederek inflamasyonun oluşmasında hayati bir rol oynar (Muntaka *et al.* 2019). Alveolar makrofajlar, *P. aeruginosa* bakterilerini içselleştirme ve uzaklaştırmanın yanı sıra nötrofiller tarafından üretilen aşırı doku hasarını önlemek için ölü nötrofilleri yutmak gibi ikili bir işlev sağlar (Omar *et al.* 2020). Kompleman sistemi, farelerin akciğerlerinde *P. aeruginosa* ile enfekte olduktan sonra hayatta kalmaları için çok önemlidir (Lin and Kazmierczak 2017). Ek olarak, *P. aeruginosa* ile ilgili dış membranda bulunan OprF porini, C3b için bir reseptör görevi görür. Membran (MAC) saldırı kompleksinin oluşumu bu temas sonucunda harekete geçer (Mishra *et al.* 2015).

Akut inflamatuvar yanıtı iyileştirmek için pro-inflamatuvar süreçlerin aktivasyonunu azaltmak çok gereklidir. Treg olarak da bilinen düzenleyici T hücreleri, anti-inflamatuvar sitokinler salgılamasının yanı sıra, pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini engellemekten de sorumludur. Buna karşılık, dendritik hücreler adaptif yanıtların başlatılmasından sorumludur. *P. aeruginosa* enfeksiyonunun akut faz sırasında tamamen ortadan kalkmaması durumunda, mukoid bir biyofilmin varlığı ile karakterize edilen kronik bir enfeksiyona ilerleyecektir (Mauch *et al.* 2018a). Kronik nötrofil enflamasyonu, efektör T hücrelerinden gelen immün yanıtın artmasının yanı sıra pro-inflamatuvar sitokinlerin üretiminde eş zamanlı bir artışa ve anti-inflamatuvar sitokinlerde ve Treg'lerde bir azalmaya yol açar (Lin and Kazmierczak 2017). *P. aeruginosa* ile enfeksiyon, daha fazla miktarda IL-5 ve IL-13 ekspresyonu ile baskın bir Th2 yanıtı ile karakterize edilen bir bağışıklık yanıtı ile karakterize edilir. B-hücrelerinin IL-4'e karşı duyarlılığında önemli bir artış vardır, ancak IFN- $\gamma$  varlığı çok azdır. Buna ek olarak, IL-10 seviyelerinde bir artış meydana gelir ve bu da IFN- $\gamma$  seviyelerinde ve makrofajlar içindeki ek yardımcı uyarıcı bileşiklerde daha fazla düşüşe neden olur. Antijenleri sunma prosedürünün yanı sıra konağın *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına karşı güçlü bir bağışıklık tepkisi geliştirme kabiliyeti de bu reaksiyonun bir sonucu olarak engellenmektedir (Mauch *et al.* 2018a). Sonuç olarak, Th1 yanıtının güçlendirilmesi, nötrofil kemoatraktanının azalması

nedeniyle nötrofil akışını azaltarak enflamasyonu hafifletebilir. Aynı zamanda, Th2 yanıtının zayıflaması immünolojik komplekslerin oluşumunu azaltarak doku hasarını azaltabilir (Seibold 2018). Th17 yanıtı, bakteri sayısını önemli ölçüde azaltarak *P. aeruginosa*'ya karşı koruyucu etkinliğini göstermiştir (Wu *et al.* 2012). Ayrıca, hafıza Th17 hücreleri, serotipe özgü antikorlara ihtiyaç duymadan kendi başlarına mukozal bir bağışıklık yanıtı oluşturma yeteneğine sahiptir (Chen *et al.* 2011). Dolaşımdaki bağışıklık komplekslerinin üretiminin, IgG olarak da bilinen ve *P. aeruginosa*'ya özgü olan yüksek immünoglobulin G seviyelerinden kaynaklandığına inanılmaktadır. Sonuç olarak, bu kompleksler alt hava yolu dokusunda toplanır, bu da dokuya zarar verir ve nihayetinde belirli bir süre boyunca akciğer fonksiyonlarında kademeli bir düşüşe neden olur (Mauch *et al.* 2018b). İmmünoglobulin A (IgA), *P. aeruginosa*'nın neden olduğu solunum yolu enfeksiyonlarına karşı bağışıklık tepkisinde önemli bir rol oynamaktadır (Li *et al.* 2020).

## 2.7 Çekirdek Algılama ve Biyofilm Oluşumu

Çekirdek algılama (QS), bakterilerin oto-indüktörler olarak adlandırılan kendi küçük sinyal moleküllerini tespit etmesini sağlayan, bakteri hücreleri arasındaki bir iletişim mekanizmasıdır. Bu süreç, bakteriyel popülasyon davranışları, patojenite ve biyofilm oluşumuyla ilgili farklı genlerin aktivasyonunu koordine eder (Cegelski *et al.* 2008). *P. aeruginosa*'nın her biri farklı bir oto-indükleyici molekül kullanan dört çekirdek algılama (QS) yolu vardır. Uygun bir bakteri yoğunluğuna ulaşmak gibi belirli kriterler yerine getirildiğinde otomatik indükleyiciler üretir. Bu oto-indükleyiciler karşılık gelen reseptörlerle birleştirildiğinde, toksisite için çok önemli olan genlerin transkripsiyonunu düzenleyeceklerdir (Dickey *et al.* 2017, Yaeger *et al.* 2021). QS proteini, çeşitli virülans faktörlerinin salınımını düzenlemede ve biyofilm oluşumunu teşvik etmede çok önemli bir role sahiptir, dolayısıyla *P. aeruginosa*'nın virülansını büyük ölçüde etkiler (Rezzoagli *et al.* 2020). Hücre dışı polimerik malzemelerle çevrelenmiş, biyofilm olarak bilinen özel bir bakteri türü, patojenik bakterilerin sıcaklık dalgalanmaları, besin eksikliği ve antibiyotiklerin neden olduğu ölüm gibi olumsuz koşullardan kaçmasına yardımcı olabilir. Ek olarak bakterilerin hem canlı hem de cansız yüzeylerdeki stabilitesini artırır (Thi *et al.* 2020). *P. aeruginosa* özellikle biyofilm oluşturma yeteneğiyle öne çıkmaktadır ve kronik enfeksiyonu olan kişiler sıklıkla bu iyi yapılandırılmış biyofilmlere sahiptir.

(Mann and Wozniak 2012). Biyofilmlerin geliştirilmesi karmaşık ve oldukça kontrollü bir prosedürdür. QS sistemiyle ilişkili virülans faktörleri biyofilmlerin yoğunluğunu ve sağlamlığını artırdığından çekirdek algılama sistemi bu süreçte çok önemlidir (Tielen *et al.* 2013).

## 2.8 Antibiyotik Direnci

*P. aeruginosa*'da antibiyotik direncinin devam etmesi halk sağlığı için daha büyük bir tehdit olmaya devam etmektedir ve hastalıkların ve ölümlerin ortaya çıkmasında önemli bir role sahiptir. Çeşitli hastalık türlerinde ilaca dirençli birden fazla *P. aeruginosa* türü tanımlanmıştır. Ulusal Sağlık Güvenliği Ağı, *P. aeruginosa*'da antibiyotik direncinin yaygınlığının, yoğun bakım ünitelerindeki hastalar arasında önemli bir sorun olmaya devam ettiğini belirtmiştir. Ayrıca, *P. aeruginosa* izolatlarının önemli bir kısmı (%29,9) çeşitli hastalıklarda çeşitli ilaçlara direnç gösterirken onkoloji departmanlarının yalnızca %11,6'sı çoklu ilaç direnci göstermiştir (Weiner-Lastinger *et al.* 2020). Karbapenem'e dirençli *P. aeruginosa*'nın yönetimi, bu suşun diğer antimikrobiyal ilaçlara genellikle dirençli olması nedeniyle zorlayıcı olabilir. *P. aeruginosa*'da nozokomiyal enfeksiyonların önemi, karbapenem dirençli izolatlara sahip kişilerin %90'ından fazlasının test pozitif çıkmadan önce daha önce tıbbi etkileşimler yaşadığı gerçeğiyle ortaya konmuştur (Walters *et al.* 2019). *P. aeruginosa* kan dolaşımı enfeksiyonları (BSI) ile daha yüksek ölüm oranları arasındaki korelasyon, *P. aeruginosa* BSI'da antibiyotik direncini özellikle önemli kılmaktadır (Wong *et al.* 2014). *P. aeruginosa* BSI üzerinde yapılan çalışmada izolatların %28'inin çeşitli ilaçlara dirençli olduğu ve bu izolatların %15'inin ilaca çok dirençli olarak sınıflandırıldığı bulunmuştur (Thaden *et al.* 2017). Ayrıca *P. aeruginosa*'nın neden olduğu nozokomiyal pnömoni vakalarının %30,5'i çeşitli ilaçlara dirençli izolatlardır. Bu, hastane ortamındaki yüksek ölüm oranıyla ilişkilendirilmiştir. *P. aeruginosa*'nın neden olduğu nozokomiyal pnömoninin ortaya çıkması, çeşitli ilaçlara dirençli suşların yüksek insidansı ile dikkat çekmektedir (Micek *et al.* 2015).

## 2.9 Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

### 2.9.1 İçsel mekanizma

Bir bakteri türünün fonksiyonel veya yapısal özelliklerindeki doğal farklılıklar, onun doğal kapasitesinin belirli bir antibiyotiğin etkinliğini azaltmasına yol açabilir. Bu fenomen, türün içsel antibiyotik direnci olarak bilinir (Blair *et al.* 2015). *P. aeruginosa*'nın çoğu antibiyotiğe karşı daha yüksek derecede doğal direnç gösterdiği gösterilmiştir. Direnç, dış zar boyunca sınırlı bir geçirgenlik, bir akış pompası sistemi ve antibiyotikleri devre dışı bırakan enzimler gibi birçok mekanizma yoluyla ortaya çıkmıştır (Pang *et al.* 2019).

#### 2.9.1.1 Dış zarın geçirgenliği

*P. aeruginosa*'nın tetiklediği enfeksiyonları etkili bir şekilde tedavi etmek için hücre zarına nüfuz edebilen ve hücre içindeki hedeflere ulaşabilen antibiyotiklerin kullanılması gerekmektedir (Moore and Flaws 2011). *P. aeruginosa*, gömülü porinler içeren simetrik bir fosfolipid ve LPS çift katmanından oluşan bir dış zara sahiptir. Porinler, antibiyotiklerin girişini kısıtlamak için seçici bir bariyer görevi gören  $\beta$ -varil protein kanallarının oluşumundan sorumludur (Zgurskaya *et al.* 2015). Porin ailesi dört ana kategoriye ayrılabilir: çoğu küçük hidrofilik molekülün kademeli difüzyonunu kolaylaştıran spesifik olmayan porinler; spesifik bir molekül kategorisi için spesifik bağlanma bölgelerine sahip olan spesifik porinler; dış zar üzerinde yer alan ve iyonlar tarafından düzenlenen, iyon bileşiklerinin alımından sorumlu proteinler olan güvenli porinler; ve ilk başta akış pompalarının çalışması için çok önemli olan akış porinleri (Masi *et al.* 2019). *P. aeruginosa*'nın birincil porini olan OprF, iyonların ve sakkaritlerin gelişigüzel alımında rol oynar (Sugawara *et al.* 2012). *P. aeruginosa*'da OprF kanallarının aşırı derecede kapanması, diğer bakteri türlerine kıyasla dış membran geçirgenliğinin çok daha düşük olmasını açıklayabilir (Bouffartigues *et al.* 2015). Daha önce belirtildiği gibi *P. aeruginosa*, karbonhidratlara özel bir porin, temel amino asitlere özel bir porin, fosfatlara özel bir porin ve pirofosfatlara özel bir porin dahil olmak üzere birçok farklı porine sahiptir (Jeddou 2021). Temel amino asitlere özgü porin, antibiyotiklerin

emiliminde işlevi olan bir tür porindir. *P. aeruginosa*, bir tür -laktam antibiyotik olan karbapenem bağlanma bölgelerine sahiptir. Öte yandan bakteriler, bu kategorideki antibiyotiklere karşı daha yüksek düzeyde dirence sahiptir çünkü temel amino asitlere özgü -porin içermemektedir (Li *et al.* 2012). Ayrıca OprH, *P. aeruginosa*'da bulunan en küçük porindir. Çalışmalar, OprH'nin Mg<sup>2+</sup> eksikliği nedeniyle aşırı eksprese edilmesi durumunda gentamisin ve polimiksin B'ye karşı direnci arttırdığını göstermiştir. Bu, dış zarın stabilize edilmesi ve LPS yapısında değişikliklerin tetiklenmesiyle elde edilir (Chevalier *et al.* 2017).

### 2.9.1.2 Akış pompası sistemleri

Bakterilerin akış pompalarının beş farklı kategorisi vardır ve bunların her biri, tehlikeli bileşiklerin hücreden uzaklaştırılması sürecinde belirli bir işlev görür (Sun *et al.* 2014). RND ailesine ait akış pompaları, *P. aeruginosa*'da antibiyotik direncinin gelişmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Membran taşıyıcıları sitoplazma içinde yer alır, bağlantı proteinleri periplazmada bulunur, porin kanal proteinleri ise hücrenin dış zarında konumlandırılır (Daury *et al.* 2016). *P. aeruginosa* içindeki RND pompalarını oluşturan sitoplazmik ve periplazmik elementler genel olarak çoklu ilaç akışı (Mex) terimiyle anılırken, *P. aeruginosa* içindeki RND pompaları en dıştaki katmanı temsil eden Opr olarak anılır. Birçok farklı RND ailesi akış pompası *P. aeruginosa* tarafından üretilmektedir; ancak bakterilerin gösterdiği ilaç direncinden bu pompalardan yalnızca dördü sorumludur (Dreier and Ruggerone 2015). MexAB-OprM, kinolonlarla kombinasyon halinde  $\beta$ -laktamların akış yoluyla uzaklaştırılmasından sorumlu proteindir. MexCD-OprJ,  $\beta$ -laktamları uzaklaştırmak için özel olarak tasarlanmışken, MexEF-OprN kinolonları etkili bir şekilde uzaklaştırma kapasitesine sahiptir. MexXY-OprM, aminoglikozitlerin akış yoluyla uzaklaştırılmasından sorumlu proteindir (Lorusso *et al.* 2022). Klinik ortamlarda bazı *P. aeruginosa* suşlarının aşırı miktarda birkaç akış pompası ürettiği ve bu durumun çoklu ilaç direncinin ortaya çıkmasına yol açtığı görülmüştür (Askoura *et al.* 2011). Araştırmalar, *P. aeruginosa*'nın bu kimyasalla tedaviyi takiben antibiyotiklere karşı daha savunmasız hale geldiğini göstermiştir. Ek olarak kimyasal, *P. aeruginosa*'nın patojenitesini azaltır ve yeter sayıyı tespit etme kapasitesini zayıflatır (Lamers *et al.* 2013).

### 2.9.1.3 Antibiyotiklerin etkisiz hale getirilmesiyle ilgili enzimler

Bakteriler, çoğunlukla ilaçları bozabilen veya değiştirebilen antibiyotiği etkisiz hale getiren enzimler üreterek antibiyotiklere karşı içsel direnç kazanır. Beta-laktamazlar ve aminoglikozid değiştirici enzimler de dahil olmak üzere *P. aeruginosa* enzimleri, çeşitli antibiyotiklerde bulunan kimyasal bağları parçalama kapasitesine sahiptir (Rampioni *et al.* 2017). Hidrolitik enzim  $\beta$ -laktamaz üreten genin ekspresyonunun artması,  $\beta$ -laktam halkasında bulunan amid bağının parçalanmasına neden olarak  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin etkinliğini kaybetmesine neden olur. Ayrıca beta-laktamazlar içerdikleri spesifik amino asit dizilerine göre A, B ve C ile D olmak üzere dört ayrı gruba ayrılır. A ve C sınıflarının yanı sıra D sınıflarından enzimler, aktif bölgede bulunan bir serin kullanarak  $\beta$ -Laktamları hidrolize edebilir. B sınıfı enzimler ise  $\beta$ -laktam hidroliz işlemini gerçekleştirmek için iki değerlikli çinko iyonlarına ihtiyaç duyan metaloenzimlerdir (Wolter and Lister 2013). Kanıtlar, *P. aeruginosa* tarafından üretilen C sınıfının sefalosporinlerin etkinliğini engellediğini göstermektedir (Bush and Jacoby 2010). Genişletilmiş spektrumlu laktamazlar (ESBL'ler) beta-laktam antibiyogramların çoğuna direnç sağlayan enzimlerdir (Berrazeg *et al.* 2015). *P. aeruginosa* yoluyla taşınan enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan antibiyotik türlerinden biri aminoglikozid olarak bilinmektedir. Bu antibiyotikler, amino şekerlere glikozit bağıyla bağlanan bir aminosiklitol halkasına sahiptir. *P. aeruginosa*, çeşitli süreçlerin bir karışımı nedeniyle aminoglikozitlere karşı direnç sergiler. Birincil mekanizma, aminoglikozit antibiyotiklerin yapısındaki amino ve glikozit gruplarının enzimatik modifikasyonunu içerir ve bu, direnç gelişiminde çok önemlidir (Rawat and Nair 2010).

Aminoglikozit fosfotransferaz, aminoglikozit asetil-transferaz ve aminoglikozit nükleotidiltransferaz olarak adlandırılan üç farklı aminoglikozit değiştirici enzim türü mevcuttur (Krause *et al.* 2016). *P. aeruginosa*'nın aminoglikozid fosfotransferaz yoluyla aminoglikozidlerdeki bir fosforil grubunu çoğunlukla 3'-hidroksile dönüştürebildiği, bunun da bu antibiyotiklerin etkinliğinin kaybına neden olduğu gösterilmiştir (Ramirez and Tolmasky 2010). Araştırmalar, aminoglikozit asetil-transferazın, çeşitli aminoglikozit formlarının devre dışı bırakılmasında çok önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Bunun nedeni, bu enzimlerin bir asetil grubunu aminoglikozitlerin amino

grubuna aktarmasıdır (Hainrichson *et al.* 2007). Aminoglikozit nükleotidiltransferazlar, bir adenilil grubunu aynı zamanda ilgili aminoglikozitlerin amino veya hidroksil grubuna da aktararak belirli aminoglikozit türlerine direnç kazandırır (Poole 2005).

## **2.9.2 Edinilmiş antibiyotik direnci**

Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanmasını sağlamak için; genlerin yatay aktarımı olarak bilinen bir süreçle direnç genleri elde edebilirler, antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilirler veya mutajenez olarak bilinen bir süreç yoluyla antibiyotiklere dirençli hale gelirler (Subedi *et al.* 2018) Daha spesifik olarak, *P. aeruginosa* antibiyotiğe karşı daha büyük miktarda içsel dirence sahiptir ve bu, çoklu ilaca dirençli izolatların ortaya çıkmasına önemli ölçüde katkıda bulunan önemli bir faktördür (Munita and Arias 2016).

### **2.9.2.1 Mutasyonların aracılık ettiği direnç**

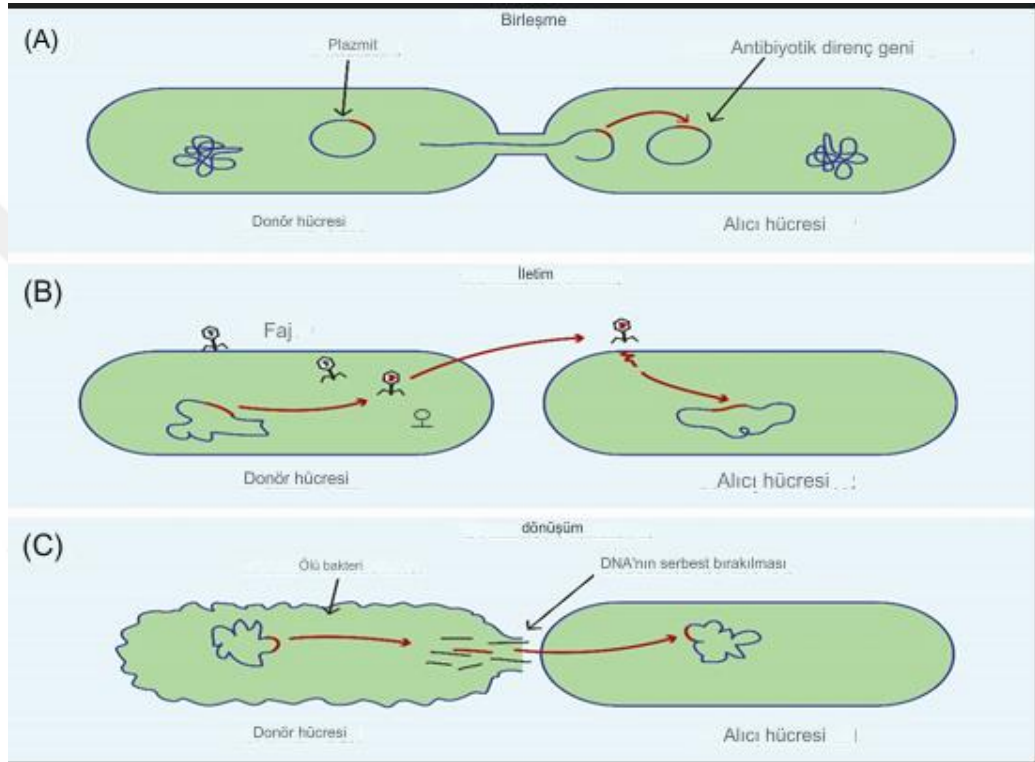
Mutasyon modifikasyonları potansiyel olarak bakterilerde çeşitli antibiyotik direnç mekanizmalarını tetikleyebilir. Bu özellikler, çeşitli antimikrobiyal ilaçlara maruz kalmalarına rağmen çevredeki bakterilerin hayatta kalmasını kolaylaştırır (Henrichfreise *et al.* 2007). DNA oksidatif onarım sürecinin devre dışı bırakılması, *P. aeruginosa*'da mutasyonların oluşmasında artışa, bu da beta-laktamaz üretiminde ve akış pompasının aktivasyonunda artışa yol açar (Munita and Arias 2016). Kendiliğinden meydana gelen mutasyonlar, belirli bir porinin ekspresyonunu ve işlevselliğini etkileyerek bakteriyel membranların geçirgenliğinde bir azalmaya ve antibiyotik direncinde bir artışa yol açabilir (Fernández and Hancock 2012). Dolayısıyla akış pompalarını yukarı doğru düzenleyen *P. aeruginosa* klinik izolatları, yüksek antibiyotik direnci göstermektedir (Cabot *et al.* 2016). Bakteriler sıklıkla antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitelerini, bu ilaçların hedefine müdahale ederek atarlar. Bu, antibiyotiklerin saldırdığı hedefleri koruyarak veya hedef aldıkları yerleri değiştirerek sağlanabilir (Munita and Arias 2016). Dolayısıyla *P. aeruginosa*'nın spesifik konumlarındaki genetik değişiklikler, bakterinin antibiyotik direncine yol açan ek bir unsurdur (Aldred *et al.* 2014).

DNA giraz veya topoizomeraz IV'ü kodlayan genlerdeki mutasyonlar, kinolonlar için protein bağlanma bölgelerinin azalmasına neden olur ve bu antibiyotiklerin bakterileri öldürmedeki etkinliğinin azalmasına neden olur (Bruchmann *et al.* 2013). 30S ribozomal alt birimini hedefleme yeteneğinin yanı sıra protein translasyonunu engelleme yeteneği nedeniyle, bu antimikrobiyal ilaç kategorisinin, ribozomal mutasyonlara sahip *P. aeruginosa* izolatlarında aminoglikozitlere karşı önemli düzeyde direnç sağladığı gösterilmiştir (El'Garch *et al.* 2007). *P. aeruginosa*'nın, bir dizi çalışmanın ortaya koyduğu gibi, penisiline bağlanan proteinlerin değiştirilmesi yoluyla beta-laktam antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirebildiği gösterilmiştir (Moyá *et al.* 2012). *P. aeruginosa* yoluyla polimiksin direncinin gelişimi, bakterinin polimiksin bağlayıcı ortağındaki bir değişiklik ile ilişkilendirilmiştir (Owusu-Anim and Kwon 2012). *P. aeruginosa*, antibiyotiklerin etkinliğini engelleyen enzimlerin üretiminin artmasına neden olan mutasyonların ortaya çıkması da dahil olmak üzere birçok mekanizma yoluyla antibiyotik direnci geliştirebilir (Munita and Arias 2016). *P. aeruginosa*'nın ampC genindeki spesifik mutasyonlar, bazı izolatların beta-laktamazları aşırı üretmesine olanak tanıyarak sefalosporinlere karşı dirençte önemli bir artışa yol açar (McDermott 2016). Ayrıca ampD genindeki değişiklikler beta-laktamaz üretiminin artmasına neden olur (Juan *et al.* 2005).

### 2.9.2.2 Kazanım genlerinden oluşan direnç

Yatay gen transferi ister aynı türden ister başka türden olsun bakterilerin diğerlerinden antibiyotiğe direnç genleri almasını sağlar. Bu genlerin dağılımı plazmidler, değiştirilebilir elementler, integronlar ve profajlar üzerinde meydana gelebilir (Breidenstein *et al.* 2011). Çalışmalar, integronların farklı *Pseudomonas aeruginosa* suşları arasında antibiyotik direncinin aktarımını kolaylaştırmada önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Khosravi *et al.* 2017). Dönüşüm süreci ve transdüksiyonun yanı sıra konjugasyon, yatay gen transferi sürecine katkıda bulunan üç ana süreçtir (Arber 2014) (Şekil 2.3). Son bulgular, *P. aeruginosa*'nın aminoglikozidlere ve laktamlara karşı direnç sağlayan genleri alma kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. *Pseudomonas aeruginosa*, metalo-beta-laktamazlar (MBL'ler) adı verilen beta-laktamaz sınıfının altı farklı varyantını üretir. Bu enzimler beta-laktam bazlı ilaçların çoğunu hidroliz yoluyla

parçalar (Hong *et al.* 2015). Araştırmalar, genlerin taşınmasından genetik bileşenlerin sorumlu olduğunu göstermiştir. Bu genler MBL'lerin antibiyotik direnci oluşturma kapasitesini düzenler (Cavalcanti *et al.* 2015). Dahası, tek bir integron birçok antibiyotiğe direnç genini aynı anda taşıma yeteneğine sahiptir. *P. aeruginosa* klinik izolatları, sınıf I integronların içinde yer alan, yakın zamanda tanımlanmış iki aminoglikozid direnç genine sahiptir (Poirel *et al.* 2001).



Şekil 2.3 Yatay olarak gen aktarımının mekanizmaları (Mutuku *et al.* 2022)

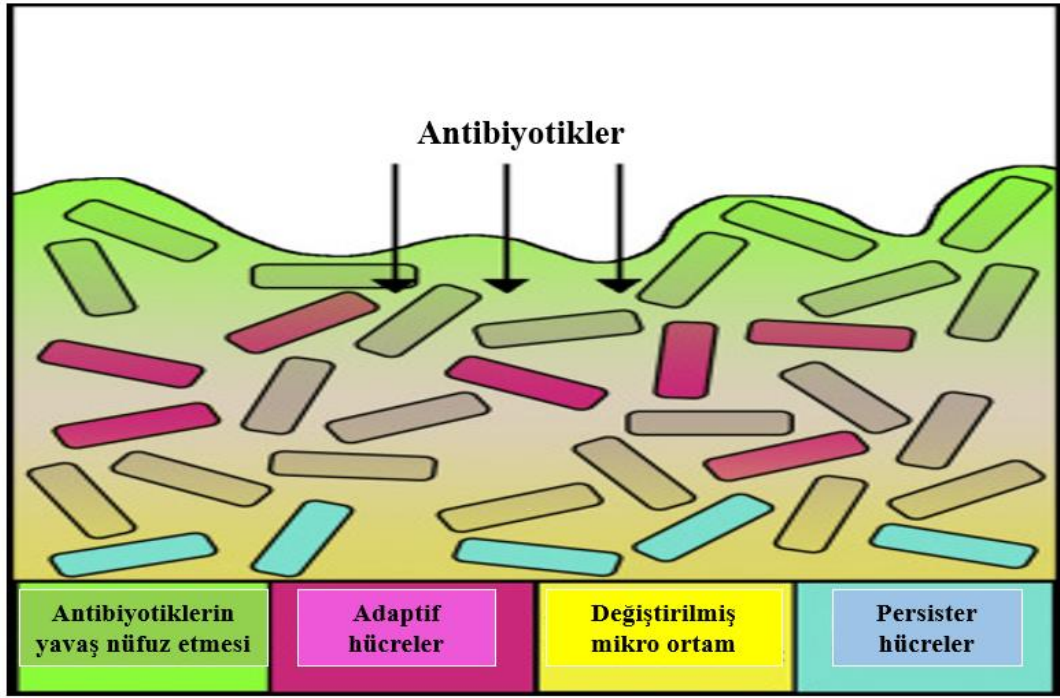
### 2.9.3 Adaptif antibiyotik direnci

Bakteriler, antibiyotiklerin zararlı etkilerine karşı savunmalarını geliştirmek için adaptif direnç kullanır. Geçici gen ekspresyonu ve protein üretimi olarak bilinen bu olay, ortamdaki bir uyarının gen ekspresyonunda ve protein sentezinde geçici değişikliklere neden olması durumunda meydana gelir. Uyarılmış olanın çevrede mevcut olmaması durumunda bu değişiklikler tersine çevrilebilir (Sandoval-Motta and Aldana 2016). Biyofilm oluşumu ve kalıcı hücre oluşumu, *P. aeruginosa*'daki adaptif direncin iki

sürecidir. Bu aktiviteler enfeksiyonun uzamasına yol açar ve hastalık sonuçları üzerinde zararlı etkilere sahiptir (Taylor *et al.* 2014).

### 2.9.3.1 Biyofilm oluşumundan kaynaklı direnç

Antimikrobiyal ilaçlara karşı artan direnç ve konağın immünolojik tepkisine karşı güçlü inhibisyon, biyofilmlerde oluşan mikrobiyal hücrelerin özellikleridir. Biyofilmde bakterilerin gelişmesine izin verildiğinde antibiyotiklerin bu bakteriler üzerinde etki yapma olasılığı azalır (Chatterjee *et al.* 2016). Ayrıca bakterilerin biyofilm korumasını geri çekmesi durumunda antibiyotik duyarlılığının hızla düzelmesi ihtimali de vardır. Bu, biyofilmin belirli antibiyotiklere karşı oluşturduğu direncin, genetik modifikasyonlara bağlı olmayan adaptif bir mekanizma olduğunu göstermektedir (Dostert *et al.* 2021) (Şekil 2.4). Bu durum, biyofilmlerin bakterilerin antibiyotiklere direnmesine yardımcı olduğu gerçeğiyle desteklenmektedir. Bakterilerde meydana gelebilecek çeşitli hücrelerarası iletişim biçimleri arasında çekirdek algılama olarak bilinen süreç vardır. Hücre popülasyonunun genel genişlemesindeki değişikliklere yanıt olarak gen ifadesinin kontrolü bu bileşenin sorumluluğundadır. *P. aeruginosa*'da üç temel çekirdek algılama mekanizması mevcuttur. Bu çekirdek algılama sistemlerinin her biri bir şekilde biyofilmlerin olgunlaşmasına ve farklılaşmasına katkıda bulunur (Kang *et al.* 2017). Öte yandan *P. aeruginosa*, biyofilm oluşturma sürecinde çeşitli fizyolojik ve fenotipik dönüşümlerden geçer (Sousa and Pereira 2014). Örneğin, kistik fibrozun neden olduğu tekrarlayan enfeksiyonlar durumunda, *P. aeruginosa* suşları bir değişime uğrar. Bu fenotip sonuçta biyofilm kolonilerinin oluşumunu sağlar (Hogardt and Heesemann 2013). Bunun nedeni flagellum'un hem kaynaşma hem de seğirme hareketi yapabilme kabiliyetine sahip olmasıdır; bunlar her iki motilite tipidir. Ayrıca, yüzeye tutunduktan sonra *P. aeruginosa* flagellum'un gelişimini önemli ölçüde ve olumsuz bir şekilde kontrol eder ve potansiyel olarak flagellum'u tamamen geçirdiği genetik değişikliklerden dolayı kaybedebilir. Sonuç olarak, konakçının bağışıklık tepkisinin uyarılma olasılığı daha düşüktür, bu da *P. aeruginosa*'nın bağışıklık sistemi tarafından tanınmaktan kaçınmasını ve fagositoza uğramasını kolaylaştırır (Skariyachan *et al.* 2018).



Şekil 2.4 Biyofilmin aracılık ettiği antibiyotik direncinin mekanizması (Pang *et al.* 2019)

### 2.9.3.2 Kalıcı bakteri hücrelerinin aracılık ettiği antibiyotik direnci

Genetik olarak antibiyotiklere dirençli olmayan ancak yüksek miktarda antibiyotiğe dayanma yeteneğine sahip bakteriyel kalıcı hücrelerin ortaya çıkışı, *P. aeruginosa* enfeksiyonlarıyla başarılı bir şekilde mücadele etmek için ele alınması gereken önemli bir engel teşkil etmektedir. Genetik olarak benzer mikroorganizma popülasyonunda çevreye verilen farklı tepkilerden kaynaklanan geçici bir fiziksel özelliktir. Bu, antibiyotiğe maruz kalma süresi boyunca dayanma ve mevcut kalma kapasitesine sahip bir fenotipin ortaya çıkmasına yol açar (Balaban *et al.* 2013). Biyofilm oluşturan bakteri izolatlarının yaklaşık %1'i kalıcı hücrelerden oluşur. Bu hücreler yavaş bir büyüme hızına sahiptir. Fizyolojik olarak hareketsizdir ve antibiyogramlara karşı daha yüksek direnç gösterir (Wang and Wood 2011). Bakteri hücrelerinin hareketsiz durumda kalması, antibiyotik hedef sentezinin inhibisyonuna yol açarak hayatta kalma ve biyofilm gelişimi olasılığının artmasına neden olur. Bu durum direncin devamlılığını sağlar ve enfeksiyonun biyofilmler yoluyla yayılmasını kolaylaştırır (Van Den Bergh *et al.* 2017). Antibiyotikler ortadan kaldırıldıktan sonra kalıcı hücreler büyümeye devam eder. Bir uyku durumuna neden olan kalıcı hücre oluşumunun birincil kaynağı, toksinler ve bunlara

karşılık gelen antitoksinler arasındaki etkileşimdir (Wang and Wood 2011). Ayrıca çevresel uyarılar kalıcı hücrelerin oluşumunu ve çoğalmasını etkiler. Bakteriyel sinyal molekülü alarmı tarafından düzenlenen ve katı yanıt olarak tanımlanan düzenleyici mekanizma, besin eksikliğine yanıt olarak tetiklenir ve *P. aeruginosa* kalıcı hücrelerinin üretimini artırmasına neden olur (Wang and Wood 2011).



### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Aletler ve ekipmanlar

Mevcut çalışma sırasında birçok alet ve ekipman kullanılmış olup Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1** Çalışmada kullanılan alet ve ekipmanlar

Aletler ve ekipmanlar	Şirket ve menşei
AURA TM PCR Kabini	EuroClone-İtalya
V-1 plus Vortex için	Digsystem-Almanya
Mini güç kaynağı 300-2200V	Supplier-Çin
UV. Bulaşma	Vilber lourmat-Fransa
Kombi-spin	Bio San-Almanya
Nanodamla	Nabi-Kore
İnkübatör	Jrad-Çin
Mikrodalga	Gosonic-Çin
Elektroforezler	CBS, Scientific-ABD
Çok Genli (OptiMax) Gradyan Termal Döngüleyici	Labnet-ABD
Yüksek hızlı mini santrifüjlü Micro-spin 12	Bio-San-Almanya
Değişken boyutlu pipet	Labnet-ABD
Jel görüntüleme sistemi	Labnet-ABD
Santrifüj	Bio San-Almanya
Hassas terazi	Kernpfb-Almanya
Su damıtma cihazı	Rovsun-Çin
Bio TDB-100, Kuru blok termostatlı	Bio San-Almanya
ELISA-yıkayıcı	Bio-Tek-ABD
ELISA okuyucu	Bio-Tek-ABD
Otomatik-VITEK Kompakt-2	Bio-Tek-ABD

##### 3.1.2 Kültürel ortamlar

Bakteriyel izolatların izolasyonu ve tanımlanması için kullanılan tüm kültür ortamları ve biyokimyasal reaktifler Çizelge 3.2'de belirtilmiştir.

**Çizelge 3.2** Çalışmada kullanılan kültürel ortamlar

<b>Kültür ortamı ve biyokimyasal reaktifler</b>	<b>Şirket ve menşei</b>
Kanlı agar	Himedia-Hindistan
MacConkey agarı	
Beyin-kalp infüzyon suyu	
Oksidaz	
Katalaz	
İndol	
Metil kırmızısı	
Vogas-Proskauer	
Sitrat	
Üçlü şeker-demir	
Üreaz	

### 3.1.3 Kimyasal ve biyolojik malzemeler

Çizelge 3.3'te moleküler çalışmalarda kullanılan tüm kimyasal ve biyolojik materyaller listelenmiştir.

**Çizelge 3.3** Çalışmada kullanılan biyolojik ve kimyasal malzemeler

<b>Malzemeler</b>	<b>Şirket ve menşei</b>
Kırmızı güvenli boyama ruhu	Intron-Kore
Yükleme boyası	
DNA Markör 100 bp	
Ana karışım	Conda-ABD
TBE tamponu 10 X	
Primer	Alfa DNA-ABD
Sodyum sitrat	Himedia-Hindistan
Kristal Menekşe	
Etanol	
Gliserol	

### 3.1.4 Kitler

İmmünojenik ve moleküler çalışmalarda kullanılan tüm kitler Çizelge 3.4'te belirtilmiştir.

### Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan kitler

Kit adı	Şirket ve menşei
Bakteriyel DNA MiniPrep kiti	Zymo-ABD
Biyofilm tahmin kiti	Fisher scientific-ABD
İnterlökin-1 ELISA kiti	Bioassay technology-Çin
İnterlökin-22 ELISA kiti	
VITEK tanımlama bakteri kiti	Promega-ABD
VITEK- bakteriyel antibiyotik direnç kiti	

### 3.1.5 Primerler

Moleküler çalışma sırasında kullanılan primerler Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

### Çizelge 3.5 Çalışmada kullanılan primerler

Hedef gen	Primer dizisi		Ürün boyutu	Referans
AlgD	İleri primer	“CGTCTGCCGCGAGATCGGCT”	313	(Faraji <i>et al.</i> 2016)
	Ters primer	“GACCTCGACGGTCTTGCGGA”		
plcN	İleri primer	“TCCGTTATCGCAACCAGCCCTACG”	481	
	Ters primer	“TCGCTGTCGAGCAGGTCTGAAC”		
plcH	İleri primer	“GCACGTGGTCATCCTGATGC”	608	
	Ters primer	“TCCGTAGGCGTCGACGTAC”		
exoS	İleri primer	“CGTCGTGTTCAAGCAGATGGTGCTG”	444	
	Ters primer	“CCGAACCGCTTCACCAGGC”		
LasB	İleri primer	“GGAATGAACGAAGCGTTCTCCGAC”	284	
	Ters primer	“TTGGCGTCGACGAACACCTCG”		

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Çalışma tasarımı

Bu çalışma, Ekim 2023'ten Şubat 2024'e kadar Irak'ın Bağdat şehrinde çeşitli hastanelere başvuran 250 yanık ve yara enfeksiyonu hastası ve 76 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu dahil edilerek gerçekleştirilmiştir. Hastalardan yaş ve cinsiyet gibi sosyodemografik veriler elde edilmiştir. Bu çalışma Helsinki İnsan Hakları Bildirgesine uygun olarak yürütülmüş olup, her hastadan kendisi veya yakınları ile birebir görüşme yapılarak çalışmaya katılan bireylerin onayları alınmıştır.

### **3.2.2 Numune toplama**

Yanık ve yara bölgelerinden numune almak için her hastadan numuneler, taşıma ortamına dahil edilmiş tek kullanımlık steril bir swab kullanılarak toplanmıştır. Bundan sonra, her hastadan 3 mL serum örneği alınmış ve antikoagülan reaktifler içermeyen bir tüpe dökülmüştür. Ardından santrifüj edilene kadar 15 dakika oda sıcaklığında bırakılmıştır.

### **3.2.3 Bakteri izolasyonu**

Bakteri izolatlarını izole etmek için iki farklı besiyeri kullanılmıştır. Kanlı agar bakteri üremesi için, MacConkey agar ise gram negatif bakterileri izole etmek için kullanılmıştır.

- Kanlı agar

Kan agarı, hassas mikroorganizmaların yetiştirilmesinde sıklıkla kullanılan çok yönlü ve besin açısından zengin bir ortamdır. Kandan türetilen agar genellikle, yüzde beş koyun kanıyla eklenen triptik soya agar ve Columbia agar bazı kullanılarak hazırlanır (Byrne 2013).

- MacConkey agar

MacConkey agarı, gram negatif olan bakterileri seçici olarak izole etmek ve ayırt etmek için kullanılan bir tür besiyeridir. Buna karşılık inhibisyon, gram negatif bakterilerin büyümesini engeller (Byrne 2013).

### **3.2.4 Biyokimyasal testler kullanılarak bakteriyel izolatların tanımlanması**

- Katalaz testi

Bakterinin katalaz enzimi üretme yeteneği, %3 konsantrasyonda hidrojen peroksit kullanılarak değerlendirilmiştir. Saf koloniler, tahta çubuk kullanılarak bakteri

üremesinden temiz lam üzerine aktarıldıktan sonra, bir miktar reaktif ilave edilmiş ve bakterilerle karıştırılmıştır. Daha sonra örnek mikroskop kullanılarak incelenmiş ve kabarcıkların varlığı testte olumlu bir sonuca işaret etmiştir (Lehman 2014).

- Oksidaz testi

Reaktif, 0,1 gm "N, N, N, N-tetrametil-p-fenilendiamin dihidroklorürün" koyu renkli bir şişede 10 mL damıtılmış su içinde ısıtılmasıyla taze olarak hazırlanır. Çalışılan organizmalar filtre kağıdına aktarılır ve ardından koloniyi reaktife eşit şekilde yaymak için bir çubuk kullanılır. Olumlu bir sonuç, testten sonra 10 ile 15 saniye içinde mavi-mor bir rengin ortaya çıkmasıyla belirlenmiştir (Lehman 2014).

- İndol testi

Bu deney, bakterinin triptofanaz enzimini sentezleme kabiliyetini incelemek için kullanılmıştır. Değerlendirilen bakteri kültürü, üreticinin talimatlarına uygun olarak önceden hazırlanmış bir peptonlu su çözeltisine eklenmiştir. Çözelti daha sonra tam 24 saat 37°C sıcaklığa kadar ısıtılmıştır. 24 saatlik inkübasyon süresinin ardından az miktarda Kovac reaktifi eklenmiştir. Bu testte pozitif bir sonuç, indikatörün enjekte edilmesini takiben 1 ile 3 dakika içinde tüpün üst kısmında kırmızı bir halkanın ortaya çıkmasıyla gösterilir. Tersine, sarı bir halkanın varlığı bu inceleme için olumsuz bir sonuca işaret eder (Lehman 2014).

- Metil kırmızısı testi

Şeker fermantasyonu ve bakteriyel asitleşme üreticinin talimatlarına bağlı kalınarak gerçekleştirilmiştir: bir metil kırmızı et suyu ortamı hazırlanmış, bakteri kültürleri steril bir halka aracılığıyla eklenmiş ve karışım daha sonra 24 saat 37°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Reaktif, test tüpüne 3 ile 5 damla arasında değişen bir miktarda eklenmiş ve sonuç hemen incelenmiştir. Sıvının kırmızı renkte olması testin pozitif sonuç verdiğini gösterir (Lehman 2014).

- Vogas-Proskauer testi

Bakterilerin asetilmetilkarbinol üretme kapasitesi, Vogas-Proskauer besiyerinde yetiştirilmeleri ve ardından 24 saat 37°C sıcaklığa maruz bırakılmalarıyla değerlendirilmiştir. Daha sonra, 1 mL potasyum hidroksit çözeltisi ve 3 mL  $\alpha$ -naftol çözeltisinden oluşan bir karışım et suyu kültürüne eklenmiş ve 30 dakikalık bir sürenin ardından incelenmiştir. Asetoinin diasetile oksitlenmesi ve daha sonra alfa-naftol ile reaksiyona girmesi süreci, besiyerinin rengini sarıdan pembeye değiştirdiği için olumlu bir etkiye sahiptir (Lehman 2014).

- Sitrat testi

Bu testin amacı, bakterilerin karbona bağlı bir metabolik yol substratı olarak işlev gören sodyum sitratı metabolize etme yeteneğini tespit etmektir. Simon tarafından formüle edilen sitrat agar besiyeri, üreticinin tavsiyelerine uygun olarak hazırlanmıştır. İzole edilen hatların her biri steril bir halka aracılığıyla oluşturulan besiyerine aktarılmış, ardından plaka 37°C sıcaklıkta yirmi dört saat inkübe edilmiştir. Bir gecelik inkübasyonun ardından kültür ortamının rengi yeşilden maviye dönerse, bu test için olumlu bir sonuç anlamına gelir (Lehman 2014).

- Üçlü şeker demir

Test, bakterilerin fermente edebileceği spesifik şekerin yanı sıra gerçekleşecek özel fermentasyon şeklini tespit etmek için yapılmıştır. Bakteri kültürü, saplama ve çizgi teknikleri kullanılarak üçlü şekerli demir agar eğimli besiyerine aşılanmıştır. Bu besiyeri üç tür şeker içermektedir: glikoz, laktoz ve sükroz. Besiyeri daha sonra bir inkübatöre yerleştirilmiş ve bir gece boyunca 37°C sıcaklıkta bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin ardından sonuç, besiyerinin tabanının ve eğiminin rengine göre değerlendirilmiştir. Şekerlerin fermentasyonu tamamlandığında, şeker fermentasyonundan kaynaklanan asitlerin oluşumu nedeniyle besiyeri kırmızıdan sarıya doğru bir renk değişimine uğrar. Ortamdaki kabarcıkların varlığı şekerin aerobik fermentasyonuna bağlanabilirken, dipte

siyah kalıntı oluşumu demir sülfat ile anaerobik fermantasyon sırasında üretilen H<sub>2</sub>S arasındaki etkileşimden kaynaklanmaktadır (Lehman 2014).

- Üreaz testi

Üreaz testi, bakterilerde üreaz enzimi üretiminin varlığını tespit etmek için yapılmıştır. İncelenen saf bakteri kolonisi bir üre agar besiyerini tohumlamak için kullanılmış ve ardından 37°C'de tam 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Besiyeri boyunca sarıdan pembeye geçiş pozitif sonuçları gösterir (Lehman 2014).

### **3.2.5 Otomatik VITEK-2 sistemi kullanılarak tanımlamanın doğrulanması ve antibiyotik duyarlılık testi**

VITEK 2 kompakt sistemi, bakterileri tespit etme kapasitesi için sadece birlikte yürütülen bir dizi birbirine bağlı biyokimyasal teste dayanmaktadır. Sistem ayrıca VITEK kartlarını kullanarak antibiyotik direnç profilini de belirlemiştir. Her kartta, her biri farklı bakteri türlerinin ayırt edilmesini sağlayan benzersiz bir biyokimyasal test sonucunu simgeleyen 46 kuyu bulunmaktadır. Bakteri süspansiyonunu VITEK kartlarına uyguladıktan sonra sonuçları bilgisayara girilmiş ve VITEK sistemiyle birlikte gelen yazılımı kullanılarak belgelenmiştir. VITEK kartları, özel raflar kullanılarak bakteri solüsyonu içeren tüplere yerleştirilmiştir (Nakasone *et al.* 2007).

### **3.2.6 Bakteri izolatlarının biyofilm oluşturma yeteneğinin mikrotitre plak yöntemi kullanılarak belirlenmesi**

Yapışık olmayan bakteri hücrelerini uzaklaştırmak için her bir kuyucukta damıtılmış su ile hassas bir durulama yapılmıştır. Ardından, %2'lik bir sodyum asetat çözeltisi kullanılarak immobilize edilmeden önce ortam sıcaklığında 15 dakika süreyle kurumaya bırakılmıştır. Sodyum asetat çözeltisi çıkarıldıktan sonra malzeme bir tur daha havada kurutulmuştur. Hücelere %1 kristal viyole içeren 900 µL kristal viyole reaktifi uygulandıktan ve yirmi dakika bekletildikten sonra çözelti uzaklaştırılmıştır. Bu prosedür

tamamlandıktan sonra hücreler distile su ile üç kez durulanmıştır. Optik yoğunluğu 600 nm'de değerlendirilmeden önce, kuyucuklarda kalan kristal viyole %80 konsantrasyonda 1 mL etanol içinde dağıtılmıştır. Kristal viyole, arka plan boyamasına karşı koymak için kullanılmıştır. Bu, negatif kontrolün 600 nm'deki ortalama optik yoğunluğunun, bakteri izolatlarının biyofilm oluşumunun 600 nm'deki ortalama optik yoğunluğuna kıyasla azaltılmasıyla elde edilmiştir. Sonuçlar ortalama ve standart sapma dikkate alınarak hesaplanmıştır.

Bakteri izolatlarının biyofilm oluşturma yeteneğinin sınıflandırılması, Gözlenen optik yoğunluğa dayanarak, bakteri izolatları ve pozitif kontroller biyofilm üretim kapasitelerine göre dört farklı gruba ayrılmıştır. Gösterilen optik yoğunluk kesme değeri, negatif kontrolün ortalama optik yoğunluğuna üç standart sapma eklenerek belirlenmiştir (Stepanovic *et al.* 2000).

### **3.2.7 Bakteri izolatlarının saklanması**

Bakterilerin Beyin-kalp infüzyon agar besiyerine aktarılması ve yaklaşık 4 santigrat derecelik bir sıcaklığın muhafaza edilmesiyle, bireysel, kontamine olmamış bakteri kolonilerinin yaşam sürelerinin uzun bir süre uzatılması mümkün olmuştur. Bakteriler, daha önce Beyin-kalp infüzyon agar besiyeri içeren steril tüplere konularak uzun süre muhafaza edilmiştir. Bu, mikropların uzun süre korunmasını kolaylaştırmıştır. Sonuç olarak, bakteriler aylarca canlı ve işlevsel kalabilmiştir. Daha sonra, maddeler yaklaşık 37°C bir gün boyunca bekletilmiş ve ardından tazeliklerini korumak için 4°C sıcaklığa kadar soğutulmuştur. Sıvı kültürün 800 µL'si %15 konsantrasyonda 200 µL gliserol ile karıştırıldıktan sonra elde edilen karışım uzun bir süre -20°C'de dondurulmuştur (Ruangpan and Tendencia 2004).

### 3.2.8 Moleküler çalışma

#### 3.2.8.1 İnaktive edilmiş saklanan bakteri izolatlarının yeniden aktivasyonu

Bakteri izolatları bir gece boyunca 37°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Daha sonra MacConkey agara ekilmiş ve aynı sıcaklıkta 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sona erdiğinde, her besiyerinden alınan bakteri izolatları Beyin-kalp infüzyon agar içeren tüplere aktarılmıştır. Çoğalmalarına izin verildikten sonra, tüm tüpler 15 dakika süreyle santrifüj işlemine tabi tutulmuştur.

#### 3.2.8.2 DNA ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyon kitinin içeriği Çizelge 3.6'da gösterilmektedir.

**Çizelge 3.6** DNA ekstraksiyon kiti bileşenleri

İçindekiler	Hacim
Yıkama tamponu-2 solüsyonu	16 mL
Yıkama tamponu-1 solüsyonu	55 mL
Proteinaz K çözeltisi	44 g
GT-2 tampon çözümü	25 mL
GT-1 tampon çözümü	25 mL
Elüsyon tamponu	10 mL
DNA döndürme kolonu	100 adet

#### 3.2.8.3 Prosedür

- Beyin kalbi infüzyonundan üretilen bakteriyel solüsyondan süpernatant çıkarılmış ve peletler daha sonra 180 µL GT1 tamponu ile süspanse edilmiştir.
- 200 µL GT2 tamponunun yanı sıra 20 µL proteinaz K eklendikten sonra numune on saniye karıştırılmış ve ardından 10 dakika boyunca 56°C'de su banyosunda inkübe edilmiştir. Örnek, inkübasyon süreci boyunca her 5 dakikada bir sıklıkta döndürülmüştür.

- Lizat numunesi 200 µL %100 etanol ile 5 saniye boyunca vortekslenerek karıştırılmıştır. Karışım daha sonra bir spin tüpüne eklenmiş ve 1 dakika santrifüj edilmiştir. Sıvı kısım daha sonra bir santrifüj kolonu kullanılarak ekstrakte edilmiş ve yeniden birleştirilmiştir.
- 500 µL yıkama tamponu (1) kadar bir hacim döndürme kolonuna eklenmiş ve 1 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Çökeltinin üzerindeki sıvı atılmış ve döndürme kolonu yeniden bağlanmıştır. Döndürme kolonu 750 µL yıkama tamponu (2) ile doldurulmuş, ardından bir dakika santrifüjlenmiştir. Katı materyalin üzerindeki sıvı çıkarılmış ve döndürme kolonu yeniden monte edilmiştir. Döndürme kolonu hızlı bir şekilde 2 dakika süreyle santrifüj işlemine tabi tutulmuştur.
- Spin kolonu daha önce yerine konulan Eppendorf tüpü kullanılarak sabitlenmiştir. Tüpe 50 µL kadar elüsyon tamponu eklendikten sonra oda sıcaklığında yaklaşık bir dakika bekletilmiştir. İnkübasyonun ardından DNA bir dakika santrifüj edildikten sonra buzdolabında -20°C sıcaklıkta saklanmıştır.

#### **3.2.8.4 Bakteri izolatlarının DNA'sının saflığının ve konsantrasyonunun belirlenmesi**

DNA içeriği, saflığı ve konsantrasyonu bir Nanodrop cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Nanodrop aygıtı kullanılarak analiz edilen bir mikrolitrelik DNA hacmi incelenmiş ve sonuçlar bilgisayarda görüntülenmiştir.

#### **3.2.8.5 Virülans genlerinin tanımlanması**

- Primerlerin hazırlanması
- Liyofilize primerlerin nükleaz içermeyen suda çözündürülmesi, mikrolitre başına yüz pikomol nihai konsantrasyona sahip bir stok çözeltisinin üretilmesini sağlamıştır. Etkili bir primer çözeltisi, 90 µL nükleaz içermeyen su ile 10 µL primer stok çözeltisi karıştırılarak oluşturulmuştur.
- Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) karışımının hazırlanması

Virülans genlerinin varlığını belirlemek için belirlenmiş bir primer seti kullanılmıştır. Tanımlama, *P. aeruginosa* izolatlarından elde edilen bir DNA şablonundaki algD, plcH, plcN, exoS ve LasB genlerinin çoğaltılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Bu işlem, her bir gen için 25 µL hacminde bir reaksiyon karışımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR amplifikasyon ürünleri %1,5 agaroz jel üzerinde elektroforeze tabi tutulmuştur. Çizelge 3.7'de PCR karışımı reaktiflerinin kesin miktarları gösterilmiştir.

**Çizelge 3.7** PCR reaktifleri

Bileşenler	Hacim (µL)
Ana karışım	14
İleri primer	1
Ters primer	1
DNA şablonu	5
ddH <sub>2</sub> O	4
Son hacim	25

- PCR protokolünün optimizasyonu

algD, plcH, plcN, exoS ve LasB genlerinin PCR protokolünün optimizasyonu Çizelge 3.8'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.8** Genlerin PCR protokolü amplifikasyonu

Döngü No	Adım	Sıcaklık	Zaman
1	Birinci denatürasyon	94°C	1 dk.
30	Denatürasyon	94°C	1 dk.
	Tavlama	60°C	1,5 dk.
	Eklenti	72°C	1 dk.
1	Son uzatma	72°C	4 dk.

### 3.2.8.6 Agaroz jel elektroforezi

PCR amplifikasyonundan sonra amplifikasyonun varlığını doğrulamak için agaroz jel kullanılarak bir elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir.

A) Jel hazırlama;

Agaroz jel, 100 mL 1X TAE çözeltisinin cam bir kaptaki birleştirilmesi ve karışıma maksimum 1,5 gm agaroz eklenmesi ile hazırlanmıştır. Çözelti kaynama noktasına ulaştığında ve tüm jel partikülleri tamamen çözüldüğünde, agaroz maksimum 1 µL toksik olmayan kırmızı boya eklenmiştir. Soğutma işlemi sırasında çözelti 50 ile 60°C sıcaklık aralığına getirilmiştir. İyi karışmasını sağlamak ve kabarcık oluşumunu önlemek için agaroz hafifçe döndürülmüştür

B) Agaroz jelin yatay dökümü;

Jel tepsisinin her iki ucuna selofan bant uygulandıktan sonra agaroz çözeltisi tepsiye dökülmüş ve 30 dakika boyunca oda sıcaklığında katılaşmaya bırakılmıştır. Tarak nazikçe çıkarıldı ve jel daha sonra jel tepsisine taşındı. Daha sonra kap, jel yüzeyini 3-5 mm aşana kadar 1X TAE tamponu ile doldurulmuştur.

C) DNA'nın yüklenmesi;

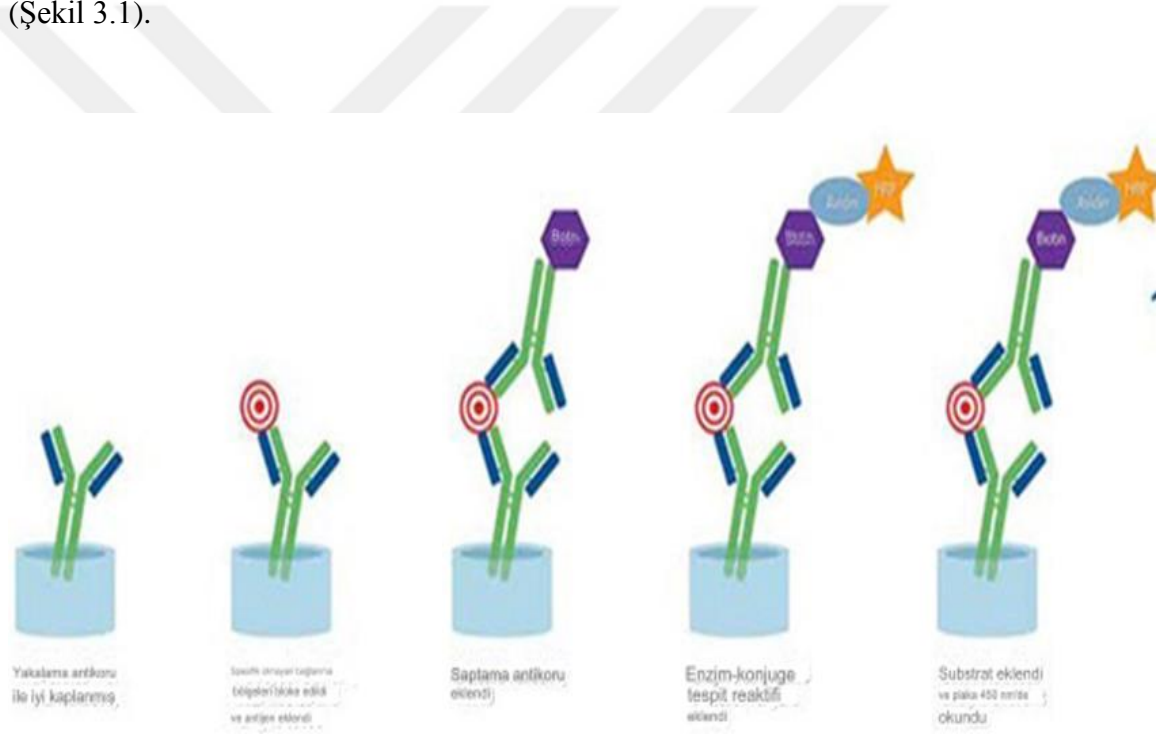
PCR ürünleri doğrusal bir şekilde yüklenmiştir. PCR ürünü kuyucuğa 5 µL konsantrasyonda konulmuştur. Bir saat boyunca 100 voltluk bir elektrik akımı uygulanmıştır. DNA bir elektroforez düzeneğinde katottan anoda doğru hareket eder. Jelde mevcut olan kırmızı güvenli boyalı bantları görmek için bir jel görüntüleme cihazı kullanılmıştır.

### **3.2.9 İmmünojenik çalışma**

Yanık ve yara enfeksiyonlu hastalar ile sağlıklı kontrollerde interlökin-1 ve interlökin-22 serum düzeylerinin enzime bağlı immünosorbent test (ELISA) tekniği kullanılarak değerlendirilmesi;

#### A) Test prensibi:

Kit plakası önceden İnsan IL-1 ve IL-22'ye özgü antikorlarla kaplanmıştır. Numunedeki IL'ler eklenir ve kuyucukların üzerine kaplanmış olan antikorlara yapışır. Daha sonra, biyotinlenmiş İnsan Antikoru eklenir ve numunede bulunan IL'ler ile bir bağ oluşturur. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş antikor ile güçlü bir bağlantı oluşturur. İnkübasyonun ardından, tüm bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama işlemi kullanılarak uzaklaştırılır. Daha sonra substrat çözeltisi eklenir ve renk yoğunluğu mevcut İnsan IL-1 ve IL-22 miktarıyla doğrudan ilişkili olarak artar. İşlem asidik bir durdurma çözeltisi eklenerek durdurulur ve ardından absorbans 450 nm dalga boyunda ölçülür (Şekil 3.1).



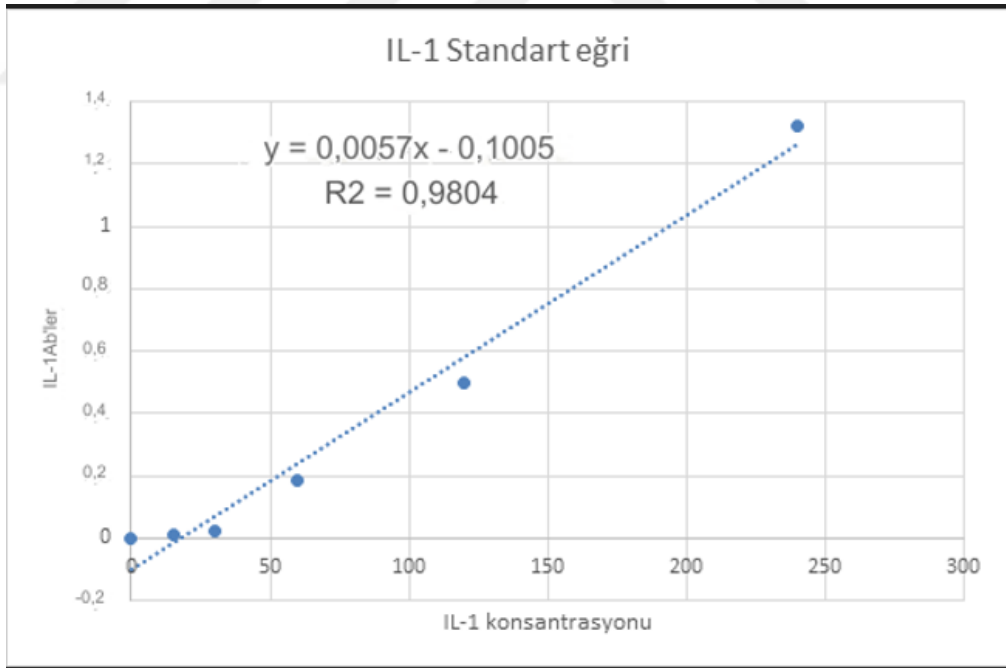
**Şekil 3.1** IL-1 ve IL-22 ELISA kitinin prensibi

#### B) Test prosedürü:

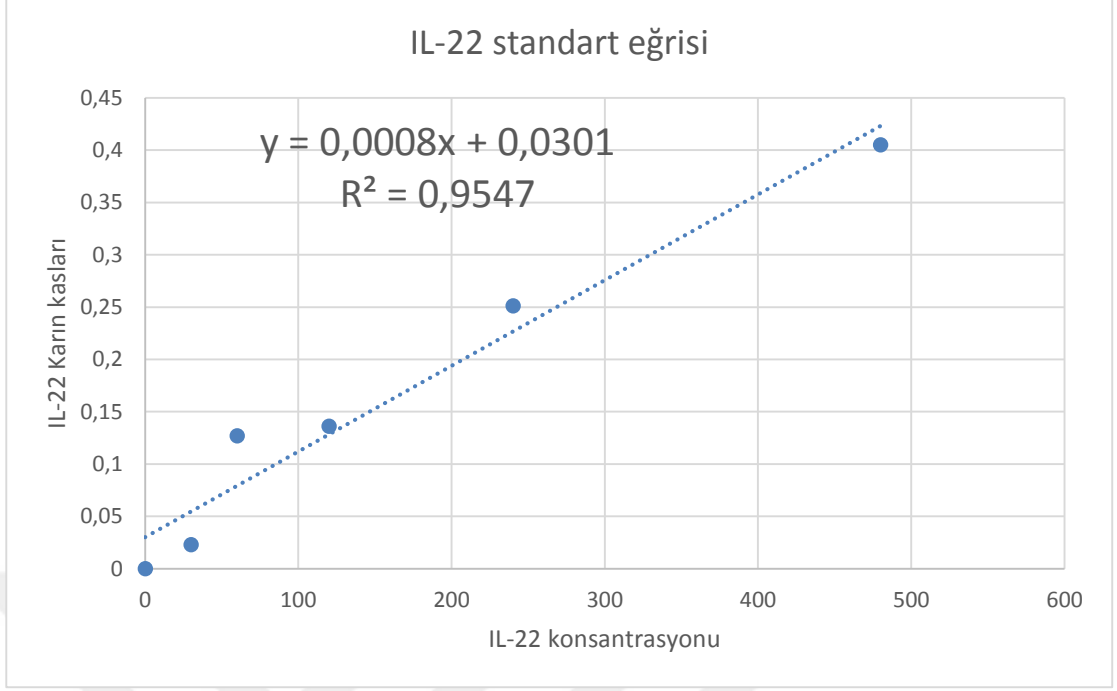
- Tüm reaktifler hazırlanarak ve kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirilmiştir.
- Test için gereken strip sayısı belirlenmiştir.
- Standart kuyucuklara yaklaşık 50 µL standart çözelti eklenmiştir.
- Tüm örnek kuyucuklarına yaklaşık 40 µL serum örneği eklenmiştir.

- Örnek kuyucuklarına yaklaşık 10 µL biyotinlenmiş antikor eklenmiştir.
- Boş kuyu hariç tüm plaka kuyularına yaklaşık 50 µL streptavidin-HRP çözeltisi eklenmiştir.
- Plaka karıştırıldıktan sonra 37°C'de bir saat inkübe edilerek mühürleyici ile kapatılmıştır.
- İnkübasyondan sonra plaka beş kez yıkanmış ve yıkama işlemi sırasında sealer 30 saniye süreyle çıkarılmıştır.
- Emici kağıt üzerinde kurutulduktan sonra, yaklaşık 50 µL substrat A ve ardından 50 µL substrat B eklenmiştir.
- Plaka karanlık bir yerde üzeri kapatıldıktan sonra 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
- Yaklaşık 50 µL durdurma çözeltisi eklenerek mavi renk hemen sarıya dönüşmüştür.
- Optik yoğunluk 450 nm'de bir mikropilaka okuyucu kullanılarak hemen belirlenmiştir.

Şekil 3.2 ve Şekil 3.3 sırasıyla IL-1 ve IL-22 standart eğrilerini göstermektedir.



Şekil 3.2 IL-1 standart eğrisi



Şekil 3.3 IL-22 standart eğrisi

### 3.3 İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi 20.0 kullanılarak analiz edilmiştir. Sayısal veriler ortalama ve standart sapma ile karakterize edilmiştir. Kategorik veriler sayılar ve yüzdeler kullanılarak temsil edilmiştir. Değişkenler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için ki-kare testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir farkın kabul edilmesi için eşik değer 0,05'e eşit ya da 0,05'in altındadır.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 Hastaların Demografik Özellikleri

Mevcut çalışma sırasında tüm hastaların yaşları Çizelge 4.1'de açıklandığı gibi 8 ile 80 arasında değişmekte olup ortalama  $41,05 \pm 21,23$ 'tür.

**Çizelge 4.1** Hastaların yaş aralığı

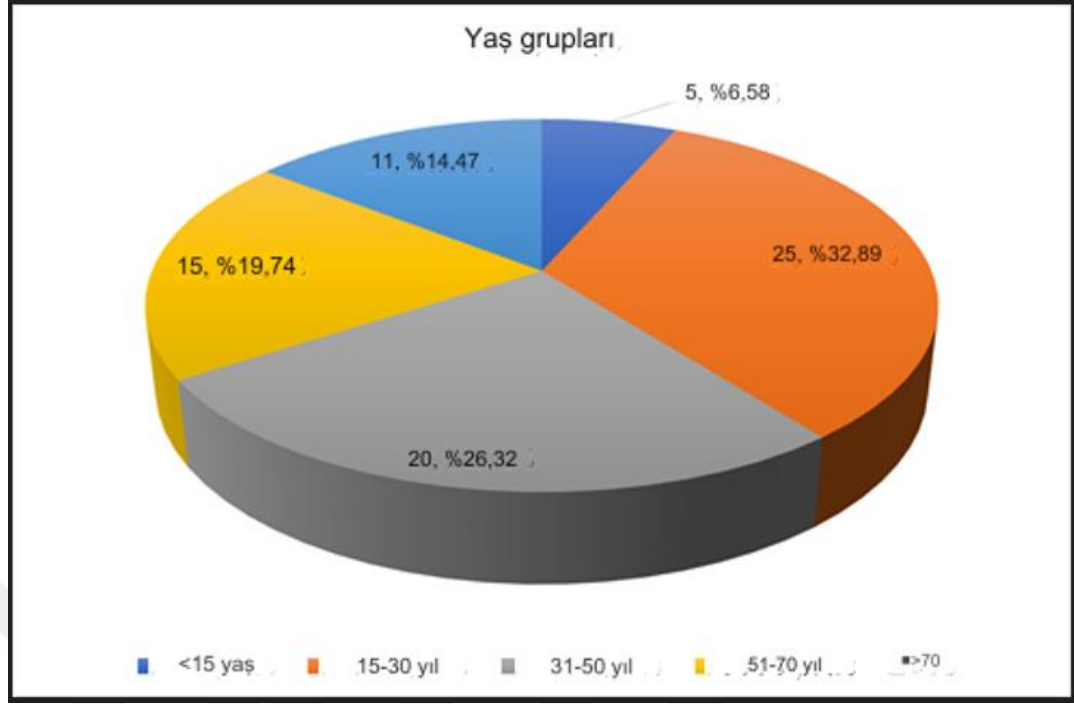
	Ortalama	Standart sapma	Minimum	Maksimum
Yaş	41,05	21,23	8,00	80,00

#### 4.1.1 Bakteri izolatlarının yaş gruplarına göre sıklığı

En yüksek bakteri izolatu sıklığı 25 izolat (%32,9) ile 15-30 yaş grubundan elde edilirken, bunu 20 izolat (%26,3) ile 31-50 yaş grubu, 15 izolat (%19,7) ile 51-70 yaş grubu ve 11 izolat (%14,5) ile >70 yaş grubu izlemiştir. Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1'de gösterildiği üzere, en düşük bakteri frekansı 5 izolat (%6,6) ile <15 yaş grubundan elde edilmiştir.

**Çizelge 4.2** Hastaların yaş gruplarına göre bakteri sıklığı

		Sıklık	Yüzde
Yaş grupları	<15 yaş	5	6,6
	15-30 yıl	25	32,9
	31-50 yıl	20	26,3
	51-70 yıl	15	19,7
	>70	11	14,5
	Toplam	76	100,0



**Şekil 4.1** Hastaların yaş gruplarına göre bakteri sıklığı

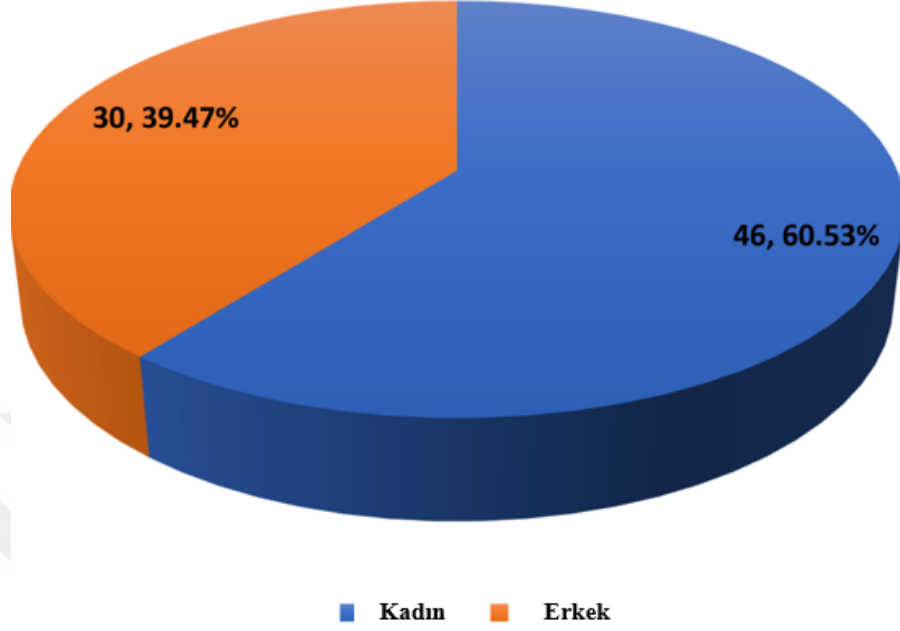
#### 4.1.2 Bakteri izolatlarının cinsiyet gruplarına göre sıklığı

Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2'de gösterildiği üzere, kadınlarda (46 izolat %60,5), erkeklere göre (30 izolat %39,5) daha yüksek bakteri sıklığı görülmüştür.

**Çizelge 4.3** Hastanın cinsiyet dağılımına göre bakteri sıklığı

		Sıklık	Yüzde
Cinsiyet	Kadın	46	60,5
	Erkek	30	39,5
	Toplam	76	100,0

## Cinsiyet



Şekil 4.2 Hastanın cinsiyet dağılımına göre bakteri sıklığı

*Pseudomonas* ve daha spesifik olarak *P. aeruginosa*, yanık hasta enfeksiyonlarında en önemli, dirençli ve zararlı bakteridir. Enfeksiyon, yanık hastalarında ortaya çıkabilecek en ciddi sonuçlardan biridir. Yanık geçiren bireylerde *P. aeruginosa*'nın neden olduğu bir enfeksiyon geliştiğinde tedavi çok zorlaşır ve enfekte hastalar arasında ölüm oranının % 40 ile 50'ye kadar ulaşması muhtemeldir. Komplikasyonun sonuçları göz önünde bulundurulduğunda, bu enfeksiyonların tedavi edilmesinden ziyade önlenmesi tavsiye edilmektedir çünkü önleme, tedaviden çok daha basit olmakla kalmayıp aynı zamanda daha uygun maliyetlidir (Gonzalez *et al.* 2016). Mevcut araştırmada, yara ve yanık enfeksiyonlarından toplam 250 örnek elde edilmiştir. Bunlardan sadece 76 örnek (%30,4) *P. aeruginosa* izolatları için pozitif olarak test edilmiştir. Irak'ta yapılan ayrı bir araştırmada, bakteriyel enfeksiyon insidansının %21,6 ile mevcut çalışmaya kıyasla daha düşük olduğu gösterilmiştir (Hasan *et al.* 2020). Ayrıca, Ekrem and Rokan (2014) tarafından Irak'ta yapılan çalışmada da sıklık daha düşük bulunmuştur. Araştırmamız, Mısır'da yapılan bir çalışmaya kıyasla hastanede yatan hastalar arasında daha yüksek *P. aeruginosa* enfeksiyonu insidansı bulmuştur (Gad *et al.* 2007). Ayrıca, mevcut araştırmada Hindistan'da yapılan daha önceki bir çalışmada belgelenen enfeksiyon

oranına kıyasla daha yüksek bir enfeksiyon oranı gözlemlenmiştir (Javiya *et al.* 2008). Mevcut araştırmanın bulgularıyla tutarlı olarak, Gujarat'ta %32,1'lik daha yüksek bir yaygınlık oranı vardır (Ninama *et al.* 2012), ancak Nijerya'da yapılan başka bir çalışmada %2,1'lik daha düşük bir yaygınlık oranı görülmüştür (Okon *et al.* 2009). Farklı çalışmalarda görülen *P. aeruginosa* oranlarındaki değişkenlik, klinik örneklerin türü, hastanelerin türü, incelenen popülasyon, coğrafi bölgeler, örnek boyutları ve sıhhi prosedürlerdeki farklılıklar gibi faktörlere bağlanabilir. *P. aeruginosa*'nın yaş ve cinsiyet gruplarına göre dağılımına bakıldığında, bizim çalışmamızla uyumlu olarak, Irak'ta yapılan bir başka çalışmada en yüksek enfeksiyonun genç yaş gruplarında ve en yüksek sıklığın erkeklere kıyasla kadınlarda olduğu tespit edilmiştir (Ahmed *et al.* 2020). Aynı şekilde, Al-Zaidi (2016) tarafından Irak'ta yapılan bir çalışmada genç yaş grubunun diğer yaş gruplarına göre daha fazla etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca, aynı çalışma bakteriyel enfeksiyonların kadınlarda erkeklerden daha sık görüldüğünü belgelemiştir (Jawad 2016). Buna karşın, Irak'ın Al-Sulaimania şehrinde yapılan bir çalışmada, yaşlı yaş grubunda *P. aeruginosa*'nın daha yüksek oranda görüldüğü gözlemlenmiştir (Ekrem and Rokan 2014). Ayrıca, bu sonuçlar Etiyopya'da yapılan bir çalışmadan elde edilen sonuçlarla da uyuşmamaktadır (Gelibo *et al.* 2014). Sonuçlardaki farklılıklar, örneklemin büyüklüğü, hastaların seçimi, coğrafi konum (kırsal veya kentsel), güvenlik protokollerine bağlılık ve kullanılan tedavi yöntemleri gibi faktörlere bağlıdır. Genç yaş grubunda enfeksiyonların daha yüksek oranda görülmesi, bu yaş aralığındaki bireylerin erkeklere kıyasla daha fazla faaliyette bulunmasına ve riskli iş ve dış ortamlara daha fazla maruz kalmasına bağlanabilir. Öte yandan, bu yaş grubundaki kadınlar ev işleriyle daha fazla ilgilenmekte ve işlerinde stres, kaygı ve yetersiz önlemler gibi psikolojik faktörlerden etkilenmektedir.

## **4.2 Bakteri İzolatlarının Kültür ve Biyokimyasal İncelemeleri**

### **4.2.1 Kültür ortamında bakteri kolonileri**

Şekil 4.3'te, MacConkey agar ve Kan agar üzerinde *P. aeruginosa* izolatları görülmektedir.



MacConkey agar



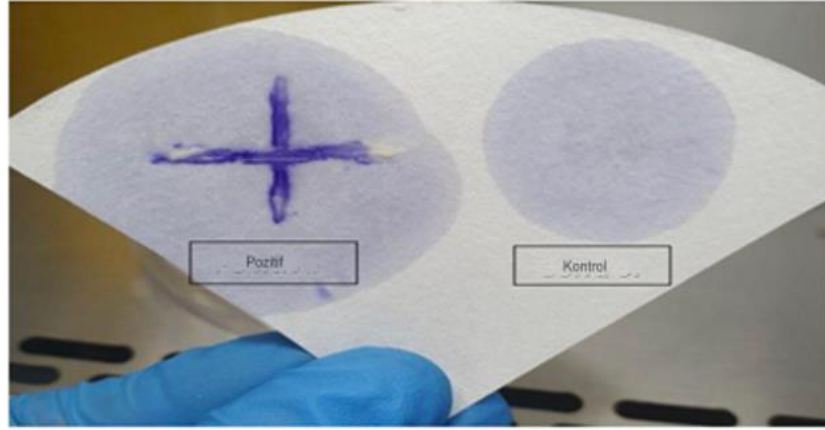
Kanlı agar

Şekil 4.3 MacConkey ve Kanlı agarlardaki bakteri izolatları kolonileri

#### 4.2.2 Bakteri izolatlarının biyokimyasal özellikleri

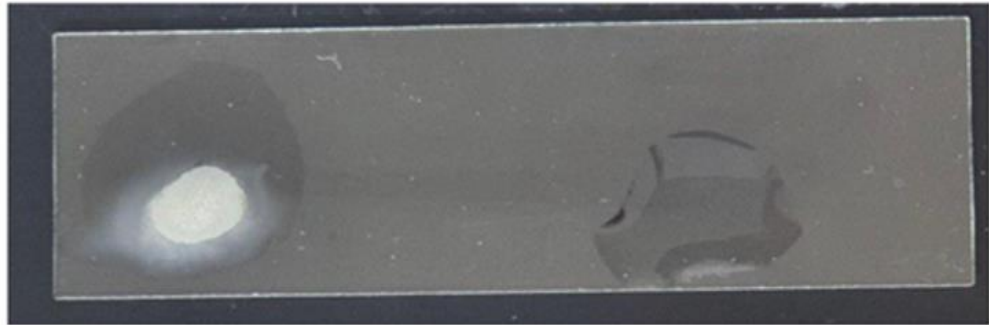
Şekil 4.4'te, bakteri izolatlarının oksidaz üretim özellikleri, Şekil 4.5'te bakteriyel izolatlar arasında katalaz üretim özellikleri, Şekil 4.6'da bakteriyel izolatlar arasında indol üretiminin özellikleri gösterilmektedir. Bunlara ek olarak, Şekil 4.7'de bakteriyel izolatlar arasında Voges Proskauer üretiminin özellikleri, Şekil 4.8'de, bakteriyel izolatlar arasında metil kırmızısı üretiminin özellikleri gösterilmiştir. Şekil 4.9'da, bakteriyel izolatlar arasında üçlü şeker demir üretiminin özelliklerini bulunmaktadır. Şekil 4.10'da,

bakteriyel izolatlar arasında üreaz üretiminin özellikleri ve Şekil 4.11’de bakteriyel izolatlar arasında sitrat üretiminin özellikleri görülmektedir.



Oksidaz testi pozitif

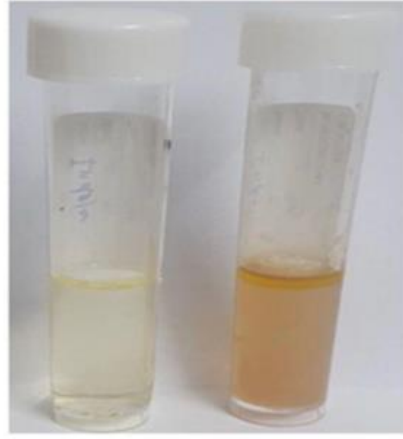
Şekil 4.4 Oksidaz testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri



Katalaz testi pozitif

Kabarcık oluşumu

Şekil 4.5 Katalaz testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri



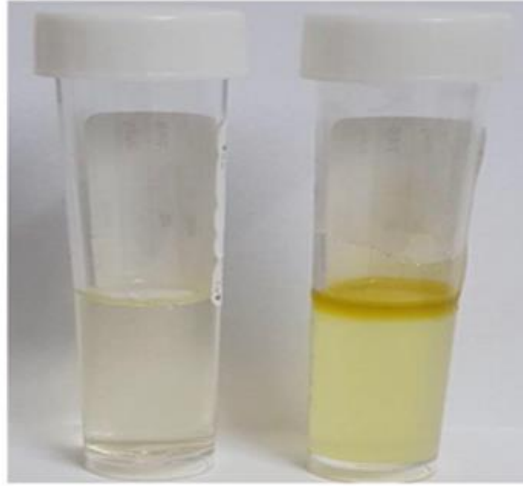
İndol testi negatif sarı

**Şekil 4.6** İndol testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri



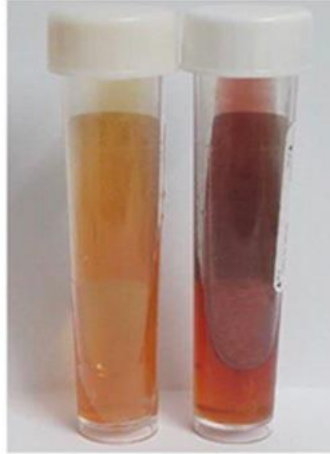
Voges proskauer Negatif sarı-kahverengi renk

**Şekil 4.7** Voges Proskauer testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri



Metil kırmızısı negatif

**Şekil 4.8** Metil kırmızısı testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri



Üçlü şeker demir testi K/K -,-

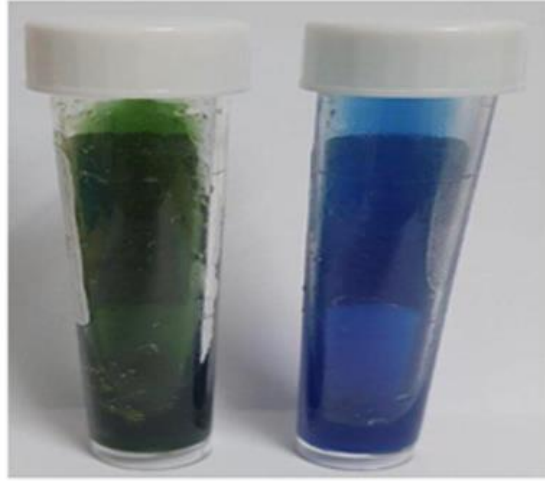
Alkali eğimli, alkalın alın, gaz yok, H<sub>2</sub>S üretilmiyor

**Şekil 4.9** Üçlü şeker demir testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri



Üreaz testi pozitif pembe renk

**Şekil 4.10** Üreaz testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikler



Sitrat testi pozitif mavi renk

**Şekil 4.11** Sitrat testi kullanılarak bakteriyel izolatların özellikleri

Bu araştırma için yanık ve yara enfeksiyonlarından muzdarip hastalardan toplam 200 klinik numune alınmıştır. Bu örneklerin her biri, özel koşullar gerektiren bakterilerin üremesini teşvik etmek ve bakterinin kırmızı kan hücrelerini parçalama kapasitesini değerlendirmek için özel olarak tasarlanmış bir besiyeri türü olan kanlı agarda kültüre tabi tutulmuştur. Pozitif kültürlerin teyit edilmesinin ardından numuneler MacConkey agarda kültüre alınmıştır. Bu besiyeri seçici ve farklılaştırılmış olup kristal viyole ve safra

tuzları içererek gram-pozitif bakterilerin büyümesini önlemek üzere tasarlanmıştır. Aynı zamanda gram-negatif bakterilerin büyümesini teşvik eder ve laktozu fermente etme yeteneklerine dayanarak ikisi arasında ayırım yapılmasını sağlar. İzolatların büyük çoğunluğu hemoliz tiplerine, sürü davranışlarına ve metalik parlaklıkta yanardönerlik görünümlerine göre tanınmıştır. MacConkey agar üzerindeki koloniler laktoz fermentasyonuna uğrama kapasitelerine göre tanımlanmıştır (MacFaddin 2004). Bir dizi biyokimyasal test yapılmış ve elde edilen bulgular Collee *et al.* (1996)'da referans verilen standart sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Tüm izolatlar Gram-negatif çomakların özelliklerini sergilemiş ve oksidaz, katalaz, üreaz ve sitrat için pozitif test edilmiştir. Ancak İndol, Vogas-Proskauer ve Metil kırmızısı testleri negatif çıkmıştır. Bu bulgular, Al-Saffar and Jarallah (2019) tarafından Irak'ta yapılan başka bir çalışma ile tutarlıdır.

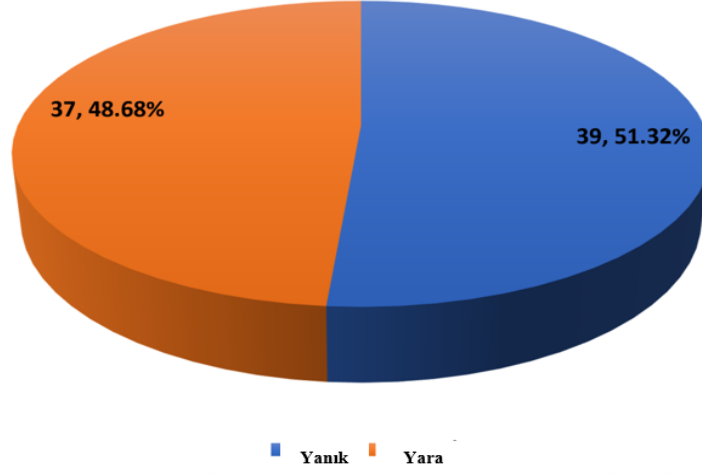
#### 4.3 Enfeksiyon Bölgesine Göre Bakteriyel İzolatların Sıklığı

Çizelge 4.4 ve Şekil 4.12'de, yara örneklerinden (37, %48,7) toplanan bakteri izolatlarına kıyasla yanık örneğinden (39, %51,3) daha yüksek bakteri izolatu toplandığını göstermektedir.

**Çizelge 4.4** Numune türlerine göre bakteri sıklığı

		<b>Sıklık</b>	<b>Yüzde (%)</b>
<b>Örnek tipi</b>	Yanık	39	51,3
	Yara	37	48,7
	Toplam	76	100,0

### Numune türü



Şekil 4.12 Numune türlerine göre bakteri sıklığı

Yara, vücut dokusunda meydana gelen bir bozulma olarak tanımlanır. Bu durum, özellikle yaralar enfekte olduğunda, potansiyel olarak yaşamı tehdit eden bir sorun olarak kabul edilmektedir. Bakterilerin varlığı, artan inflamatuvar yanıtı nedeniyle yaraların iyileşme sürecini engelleyebilir (Sen 2021). Fırsatçı bir bakteri olan *P. aeruginosa*, birçok yara türünde bulunabilen baskın bakteri türüdür. Yanıklar, kasıtsız yaralar, cerrahi yaralar ve enfekte yaraların yanı sıra kulak enfeksiyonları ve idrar yolu enfeksiyonları olan bireyler vücutlarında *P. aeruginosa* barındırmaya çok yatkındır (Qin *et al.* 2022). Bir başka çalışma, çeşitli yara türlerinde *P. aeruginosa* enfeksiyonu prevalansının %38 olduğunu ortaya koymuştur (Ijaz *et al.* 2019). Daha önce yapılan bir çalışmada, pozitif izolatların % 32'sinde *P. aeruginosa* bulunduğu ortaya çıkmıştır (Bhattacharjee *et al.* 2006). Başka bir analizde, *P. aeruginosa*'nın yara hastalarının %33,3'ünde mevcut olduğu bulunmuştur (Turner *et al.* 2014). Yara hastaları toplam *P. aeruginosa* vakalarının %27,78'ini oluşturmaktadır (Ranjan *et al.* 2010). Yapılan çalışmalar, yanık yarası olan bireyler arasında *P. aeruginosa* prevalansının farklı yara türlerine sahip olanlara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu tahmin hastanın yaşı, cinsiyeti ve hastanede yatış süresine göre hesaplanmıştır (Ahmed 2016). Daha önceki çalışmalarda bildirilen yüksek frekansla karşılaştırıldığında, araştırmamızda yara hastaları arasında *P. aeruginosa* prevalansındaki farklılıklar, yetersiz tedavi, bakterinin dokuda kolonize olma yeteneği, hastaların ihmali ve hastane ortamındaki sağlıklı koşullar gibi faktörlere bağlanabilir. Yanık yaralanmaları dünya

genelinde insan sağlığı için önemli bir tehdit olarak kabul edilmekte ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara yakalanma riskinin daha yüksek olmasıyla ilişkilendirilmektedir. Aynı zamanda nemli olan yanık bölgesinde çözünmüş ve çürüyen dokuların varlığı nedeniyle, *P. aeruginosa* yaraya sızma yeteneğine sahiptir. Yanık yaralanmalarının fırsatçı patojenlerle, özellikle de antibiyotiklere karşı hızla direnç geliştirebilen yaygın bir bakteri olarak kabul edilen çok ilaca dirençli *P. aeruginosa* ile enfekte olması, koruyucu cilt bariyerinin bozulması, bağışıklığın azalması ve hastanede kalış süresinin uzaması gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak gerçekleşebilir (Tawfeeq *et al.* 2021). Bir başka analiz, bazı çelişkili bulgulara rağmen, *P. aeruginosa*'nın yanık hastalarından geri kazanılan baskın bakteri olduğunu ortaya koymuştur (Ahmed *et al.* 2019). Ayrıca araştırma, *P. aeruginosa* enfeksiyonunun önemli sayıda yanık hastası arasında yaygın olduğunu ortaya koymuştur (Khosravi *et al.* 2019). Buna ek olarak, araştırmalar bu bakterinin yanıkla enfekte hastalar arasında yaygın olduğunu göstermiştir ve en son araştırmalar da aynı sonuçları vermiştir (Abdi *et al.* 2024). Bireyler arasındaki sağlık uygulamalarındaki farklılıklar, tedavi prosedürü, antibiyotik direnci ve coğrafi bölgelerdeki farklılıklar, birçok çalışmada görülen insidans oranlarındaki eşitsizliklerden sorumlu olabilir.

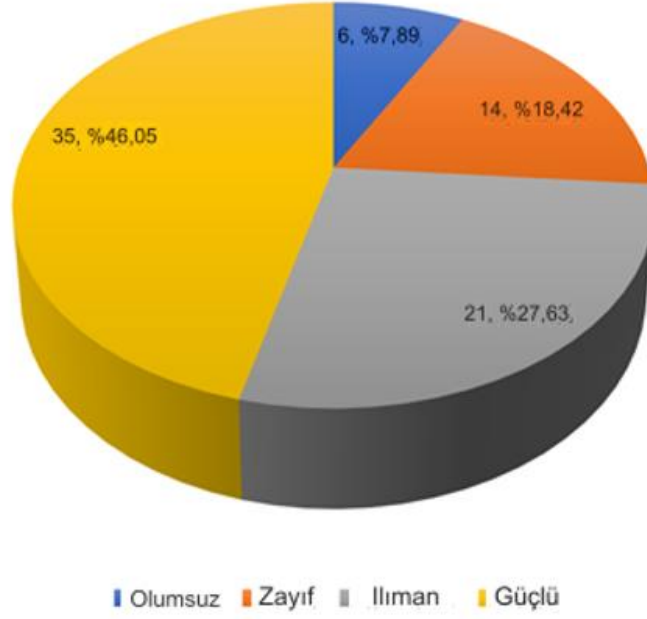
#### 4.4 Bakteri İzolatlarının Biyofilm Oluşturma Kapasitesi

76 bakteri izolatu arasında 35 izolat (%46,1) güçlü biyofilm oluşturma yeteneğine, 21 izolat (%27,6) orta düzeyde biyofilm oluşturma yeteneğine ve 14 izolat (%18,4) zayıf biyofilm oluşturma yeteneğine sahiptir. Buna karşılık, Çizelge 4.5 ve Şekil 4.13'te gösterildiği gibi, 6 izolat (%7,9) biyofilm oluşturma yeteneğine sahip değildir. Mikrotiter plaka yöntemi kullanılarak bakteri izolatlarının biyofilm oluşturma kabiliyeti Şekil 4.14'te gösterilmiştir.

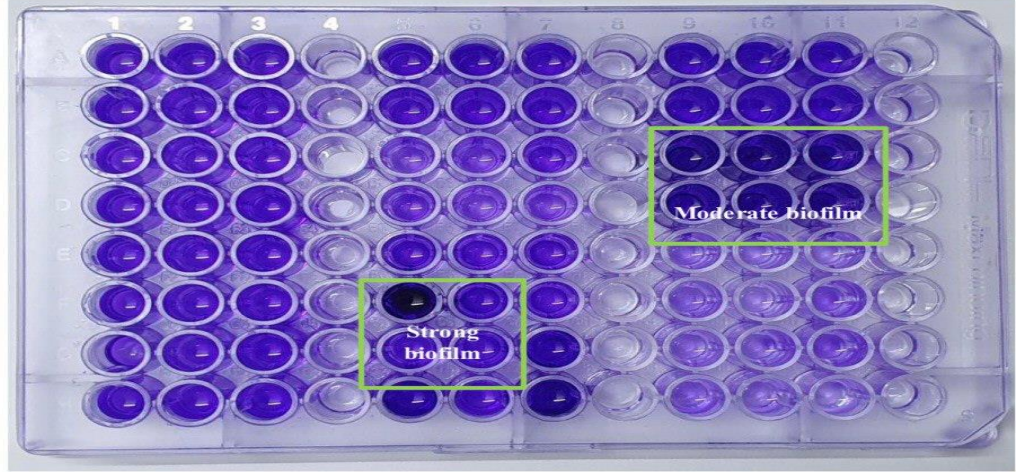
Çizelge 4.5 Biyofilm oluşumunun bakteriyel yeteneği

		Sıklık	Yüzde (%)
Biyofilm oluşumu	Olumsuz	6	7,9
	Zayıf	14	18,4
	Orta	21	27,6
	Güçlü	35	46,1
	Toplam	76	100,0

Biyofilm oluşumu



Şekil 4.13 Biyofilm oluşumunun bakteriyel yeteneği



Şekil 4.14 Mikrotitre plakasında biyofilm oluşumunun konsantrasyonu

*Pseudomonas aeruginosa* çeşitli virülans faktörlerine sahiptir ve birincil virülans faktörlerinden biri biyofilm oluşturma kapasitesidir. Bu biyolojik olgu, patojene konağın bağışıklık sisteminden koruma sağlar ve antimikrobiyal tedavilere dayanma kabiliyetine katkıda bulunur. Bulaşıcı enfeksiyonların yaklaşık %80'i biyofilm üretimine

bağlanmaktadır. Bu patojenin biyofilm oluşturma kapasitesi ve antimikrobiyal ajanlara karşı direnci, kalıcı ve kronik bakteriyel enfeksiyonların gelişmesine katkıda bulunur (Elmanama *et al.* 2020). Biyofilm, mikroorganizmalardan oluşan ve sesil olmaları ile ayırt edilen bir hücre popülasyonudur. Bu hücreler bir yüzeye veya temasa ya da birbirlerine kalıcı olarak yapışmışlardır. Kendi oluşturdukları hücre dışı polimerik maddelerden oluşan bir matris içine gömülüdürler. Ayrıca, büyüme hızları ve gen transkripsiyonları açısından değiştirilmiş bir fenotipe sahiptirler (Flemming *et al.* 2016). Biyofilm üretimi, *P. aeruginosa*'nın bulaşıcılığına ve virülansına önemli bir katkıda bulunur (Issa *et al.* 2018). Biyofilm üreten *P. aeruginosa* bakterisinin neden olduğu enfeksiyon, antibiyotiklerin etkinliği izlenebildiği için kronik bir forma dönüşebilir. Biyofilmlerin antibiyotiklere karşı direnci, fiziksel, fizyolojik ve genetik değişkenler de dahil olmak üzere çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (Ciofu and Tolker-Nielsen 2019). Mikrotiter plaka yöntemi, membran konfigürasyonunun belirlenmesi ve biyofilm üretiminin yüksek, orta veya zayıf olarak sınıflandırılması için erken çalışmalarda çok önemlidir. Bu önemlidir çünkü biyofilm oluşumu, bakterilerin hayatta kalması ve korunmasının yanı sıra, özellikle edinilmiş hastalıklara yol açabileceği hastane ortamlarında yüzeylere yapışmasında hayati bir rol oynamaktadır (Pedersen *et al.* 1992). Irak'ta daha önce yapılan bir araştırmanın bulguları, incelenen tüm izolatların biyofilm üretebildiğini ortaya koymuştur. Bu izolatların %47,5'i güçlü biyofilm oluşumu, %30,0'i orta düzeyde biyofilm gelişimi ve %22,5'i zayıf biyofilm oluşumu göstermiştir. Ayrıca, başka bir araştırma *P. aeruginosa* izolatlarının %91,4'ünün biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir. Bu izolatların %25,7'si güçlü biyofilm üreticileri olarak sınıflandırılırken, %40 ve %25,7'si sırasıyla orta ve zayıf biyofilm üreticileri olarak kategorize edilmiştir (El-Khashaab *et al.* 2016). İran'da yapılan bir çalışmada, tüm izolatların yanık kurbanlarından elde edildiği bulunmuştur (Corehtash *et al.* 2015). Hindistan'da biyofilm oluşturan izolatlar tüm antibiyotiklere karşı direnç göstermiş ve bu direncin biyofilm oluşturmaya kıyasla bu izolatlarda daha yüksek olduğu görülmüştür. Dolayısıyla, biyofilm gelişimi bakteriyel enfeksiyonların yönetiminde önemli bir rol oynayan önemli bir virülans faktörüdür. Ayrıca, biyofilm oluşumunun derecesi ve yoğunluğu, enfeksiyonun yeri ve türü, bakteri istilasının süresi, konağın immünolojik tepkisi, EPS bileşimi ve bakterilerin çevreye uyum sağlama yeteneği gibi faktörlerden etkilenmektedir (Hall-Stoodley and Stoodley 2009). Bakteriyel biyofilm

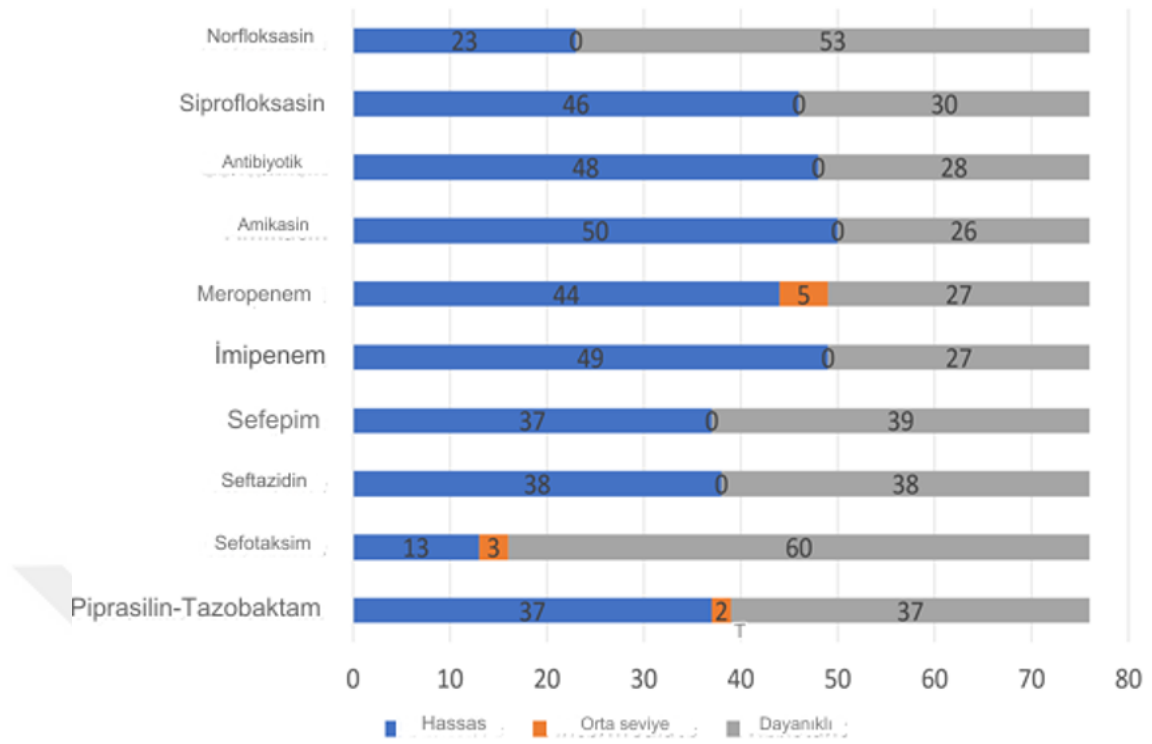
üretimnin önemli seviyelerde olması, antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç insidansının yüksek olmasını açıklayabilir. Bunun nedeni, bakteriyel büyüme ve tedaviye direnç için en uygun ortamı yaratan mukus ve konakçı proteinlerinden oluşan koruyucu bir tabaka oluşturan biyofilmin patojenite üzerindeki önemli rolüdür (Algburi *et al.* 2017). Çeşitli çalışmalarda elde edilen bulgulardaki farklılıklar, farklı ülkelerden toplanan numunelerin farklı kökenleri, izolatların elde edildiği klinik numunelerin miktarı ve niteliği ve izolatların biyofilm oluşturma kabiliyetlerindeki farklılıklar gibi çeşitli faktörlere bağlanabilir.

#### 4.5 Antibiyotik Duyarlılık Profili

Bakteri izolatları arasında en yüksek direnç oranı Sefotaksime (%78,95) karşı görülürken, bunu Norfloksasin (%69,74) izlemiştir. Orta direnç oranı Sefepim'e (%51,32) karşı olup, bunu Seftazidin (%50) ve Piprasilin-Tazobaktam (%48,68) takip etmektedir. Buna karşılık, en düşük direnç oranı Siprofloksasin'e (%39,47) karşı görülürken, bunu Gentamisin (%36,84) ve İmipenem ve Meropenem (%35,53) izlemiştir. Ayrıca, Çizelge 4.6 ve Şekil 4.15'te gösterildiği gibi, en düşük direnç oranı Amikasin'e (%34,21) karşı olmuştur.

**Çizelge 4.6** Bakteriyel izolatların duyarlılık-direnç profili

Antibiyotik adı	Hassas		Orta seviye		Dayanıklı	
	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)
Piprasilin-Tazobaktam	37	%48,68	2	%2,63	37	%48,68
Sefotaksim	13	%17,11	3	%3,95	60	%78,95
Seftazidin	38	%50,00	0	%0,00	38	%50,00
Sefepim	37	%48,68	0	%0,00	39	%51,32
İmipenem	49	%64,47	0	%0,00	27	%35,53
Meropenem	44	%57,89	5	%6,58	27	%35,53
Amikasin	50	%65,79	0	%0,00	26	%34,21
Gentamisin	48	%63,16	0	%0,00	28	%36,84
Siprofloksasin	46	%60,53	0	%0,00	30	%39,47
Norfloksasin	23	%30,26	0	%0,00	53	%69,74



**Şekil 4.15** Bakteriyel izolatların duyarlılık- direnç profili

Bakteriyel patojenler arasındaki antimikrobiyal direnç, önemli hastalık ve ölüm oranlarıyla bağlantılı olarak dünya çapında bir endişe oluşturmaktadır. Çoklu ilaca dirençli bakteri türlerinin ortaya çıkması, geleneksel antimikrobiyal ajanlar kullanılarak yönetilmesi zor veya potansiyel olarak tedavi edilemez hastalıklarla sonuçlanmıştır. Birçok sağlık kuruluşu, ağır hasta bireylerde patojen bakterilerin ve antimikrobiyal duyarlılık modellerinin erken tanımlanmasına sahip değildir. Sonuç olarak, geniş spektrumlu antibiyotikler sıklıkla ve uygunsuz bir şekilde kullanılmaktadır. Ortaya çıkan direnç kayda değer bir artış göstermektedir ve yetersiz enfeksiyon kontrol önlemleriyle birleştiğinde, dirençli bakteriler diğer hastalara ve çevreye kolayca bulaşabilir. Yaygın olarak karşılaşılan bakteriyel enfeksiyonlarda antibiyotik direncine ilişkin güncel epidemiyolojik verilere sahip olmak, yalnızca tedavi seçenekleri hakkında karar vermek için değil, aynı zamanda hastanelerde etkili bir antimikrobiyal yönetim programı oluşturmak için de değerlidir (Akova 2016). Önemli bakteriyel enfeksiyonlar, geleneksel tedavilere karşı giderek daha fazla direnç geliştirmektedir. Birçok ilaca dirençli mikropların ortaya çıkışında hızlı bir artış söz konusudur (Mühlen and Dersch 2016). Antibiyotik direncinin ortaya çıkışına karşı koyacak taktiklerin keşfedilmesi dünya

çapında önemli bir sorundur. Son birkaç on yılda, bir veya daha fazla antibiyotiğe karşı direnç geliştiren insan patojeni bakterilerin yaygınlığında küresel ölçekte önemli bir artış olmuştur. İlaça dirençli bakterilerin neden olduğu hastalıkların sayısı giderek artmakta ve geleneksel tedavi yöntemlerine karşı dirençli hale gelmektedir. Son seçenek olarak görülen ilaçlar bile etkinliklerini kaybetmektedir (Chellat *et al.* 2016). Klinik patojenlerde bulunan antibiyotik direnç genlerinin ilgili olan tek genler olmadığı giderek daha fazla kabul görmektedir. Antibiyotik direnç genlerinin, bu genler için bir rezervuar görevi gören patojenik, kommensal ve çevresel mobil genetik elementlerde ve bakteriyofajlarda da bulunabileceği gösterilmiştir. Patojenik bakteriler yatay gen transferi yoluyla direnç geliştirebilir ve bu da antibiyotik direncinin çevresel türlerin yanı sıra kommensal türlerden hastalığa neden olan türlere aktarılmasına yol açar. Direncin büyüklüğü ve hastalığa neden olan bakterilerin büyümesini teşvik etmedeki rolü hakkında kapsamlı bir anlayış kazanmak, bu genetik özelliklerin yayılmasını etkili bir şekilde yönetmek için çok önemlidir (Von Wintersdorff *et al.* 2016). *P. aeruginosa*, çeşitli geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı hızla direnç geliştirebilen yaygın bir bakteridir. "Çok ilaca dirençli *P. aeruginosa* (MDR Pa)", yanık yarası enfeksiyonu olan hastalar arasındaki ölüm ve hastalık oranlarına önemli bir katkıda bulunmakta ve birçok ülkede hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli bir kısmına yol açmaktadır. MDRPa fenotipi, karbapenemleri ve beta-laktamları etkisiz hale getiren bazı enzimlerin varlığı nedeniyle en az üç antibiyotik sınıfına karşı direnç gösteren bir bakteriyi ifade etmektedir (Vahdani *et al.* 2012). Irak'ın Kerkük şehrinde daha önce yapılan bir araştırma, izolatların tamamının beta-laktamlara direnç gösterdiğini ve izolatların %53'ünün seftazidime direnç gösterdiğini ortaya koymuştur (Ahmed *et al.* 2019). İran'da yapılan ayrı bir çalışma, Seftazidim'e karşı önemli düzeyde direnç olduğunu ortaya koymuştur (Nikokar *et al.* 2013). Hastanelerde yaygın kullanımı nedeniyle, *P. aeruginosa* Beta-laktam antibiyotiklere karşı daha fazla direnç göstermiştir (CDC 2010). Naqvi *et al.* (2005) tarafından yapılan bir çalışma, izolatların amikasin ve gentamisine karşı önemli bir direnç oranı olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, izolatların %94,7'si imipeneme karşı direnç göstermiştir (Moazami and Eftekhar 2013). Pathmanathan *et al.* (2009) tarafından yapılan bir çalışma, kinolonlara karşı %83,5 oranında direnç olduğunu ortaya koymuştur. Farklı çalışmalarda bakteriyel direnç insidansındaki farklılık, analiz edilen klinik numunenin türü,

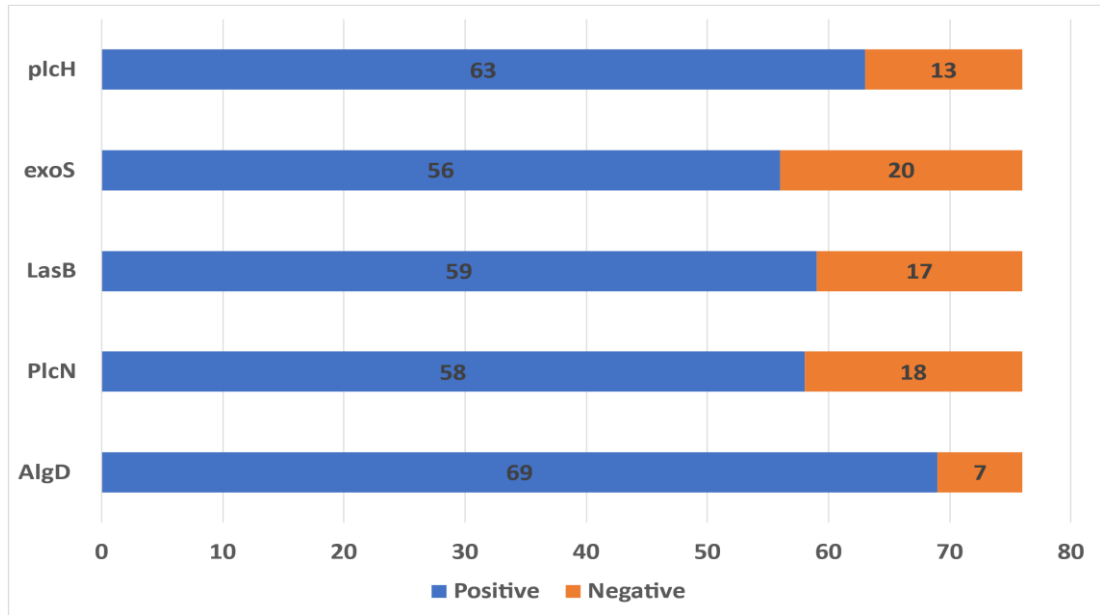
popülasyonun sıhhi uygulamaları, coğrafi farklılıklar, uygunsuz antibiyotik kullanımı ve ilaç dozu ve süresi gibi faktörlere bağlanabilir.

#### 4.6 Virülans Genlerinin Sıklığı

Virülans genine göre, algD 69 izolat (%90,79) arasında pozitif ve 7 izolat (%9,21) arasında negatif, plcH geni 63 izolat (%82,59) arasında pozitif ve 13 izolat (%17,11) arasında negatif, plcN geni 58 izolat (%76,32) ve 18 izolat (%23,68) arasında negatif, LasB geni 59 izolat (%77,63) arasında pozitif ve 17 izolat (%22,37) arasında negatif ve exoS geni 56 izolat (%73,68) arasında pozitif ve 20 izolat (%26,32) arasında negatif olarak Çizelge 4.7 ve Şekil 4.16'da gösterilmiştir.

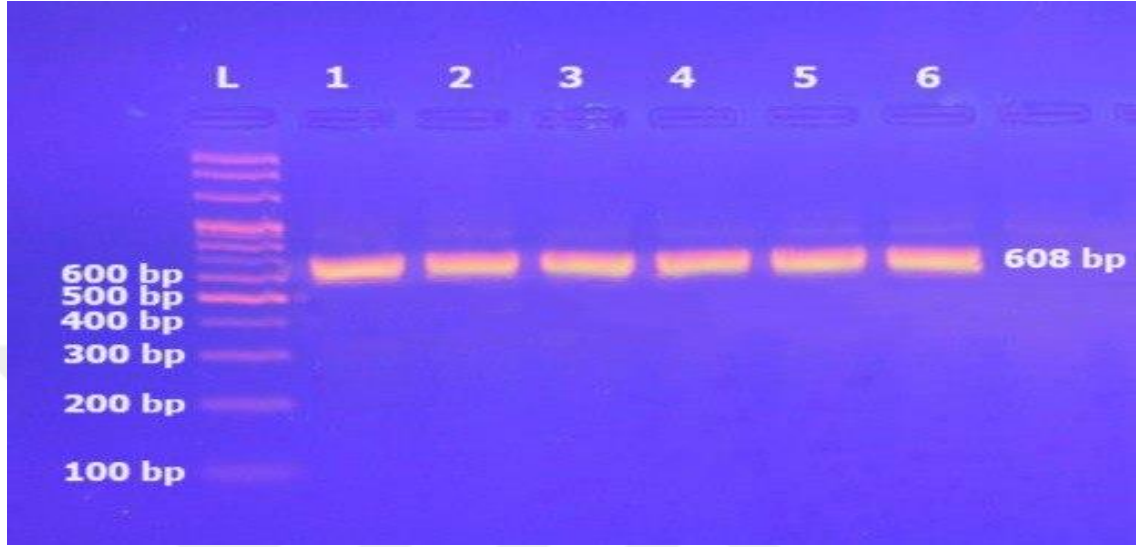
Çizelge 4.7 Bakteriyel izolatlar arasında virülans gen frekansı

	algD	PlcN	LasB	exoS	plcH
<b>Pozitif</b>	69	58	59	56	63
<b>%</b>	%90,79	%76,32	%77,63	%73,68	%82,89
<b>Negatif</b>	7	18	17	20	13
<b>%</b>	%9,21	%23,68	%22,37	%26,32	%17,11

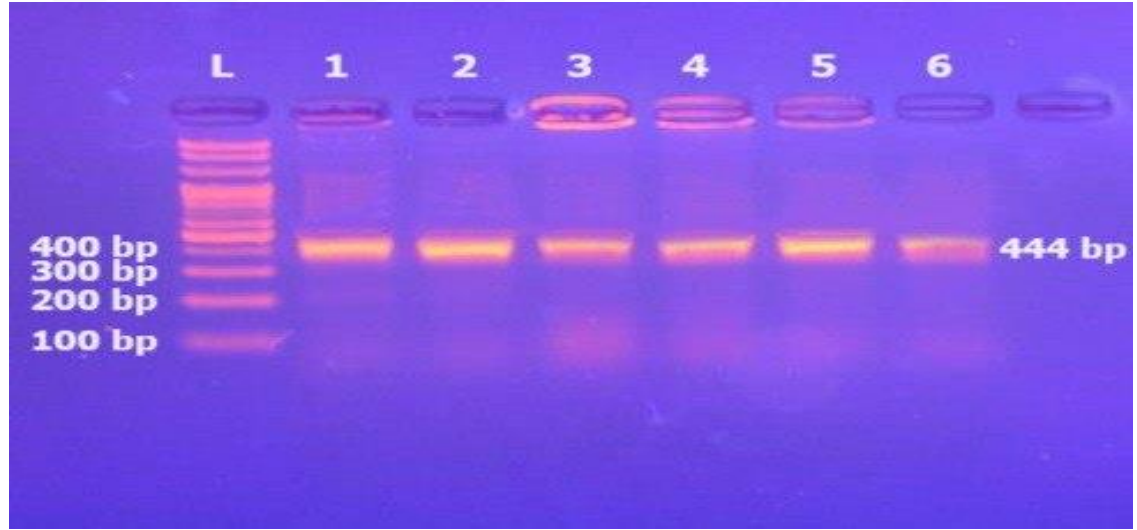


Şekil 4.16 Bakteriyel izolatlar arasında virülans gen frekansı

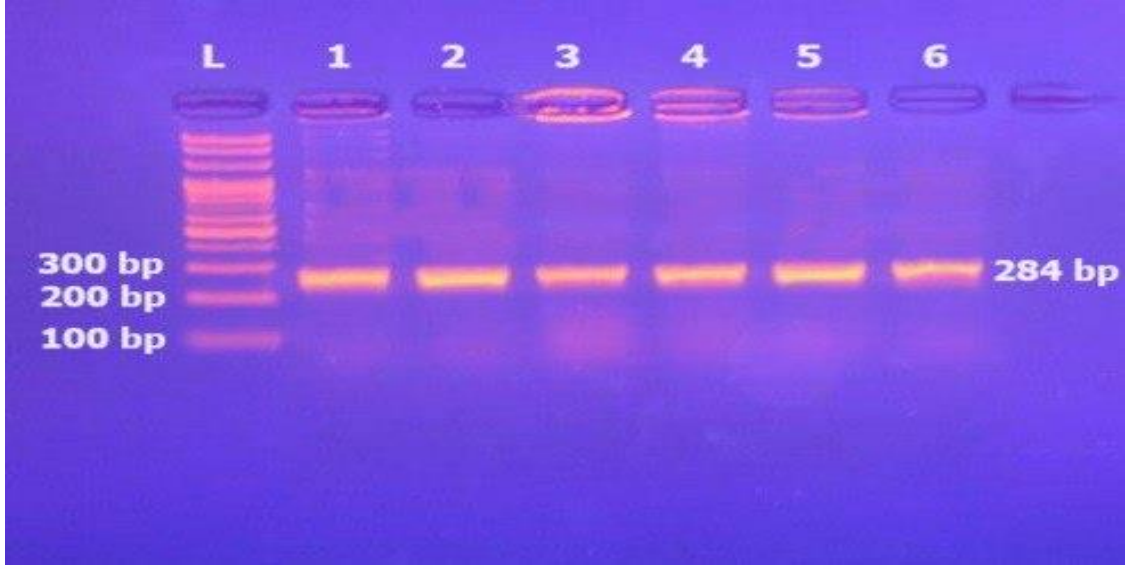
PlcH, exoS, LasB, plcN ve algD genlerinin agaroz jel elektroforezi üzerindeki polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri sırasıyla Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19, Şekil 4.20 ve Şekil 4.21'de gösterilmektedir.



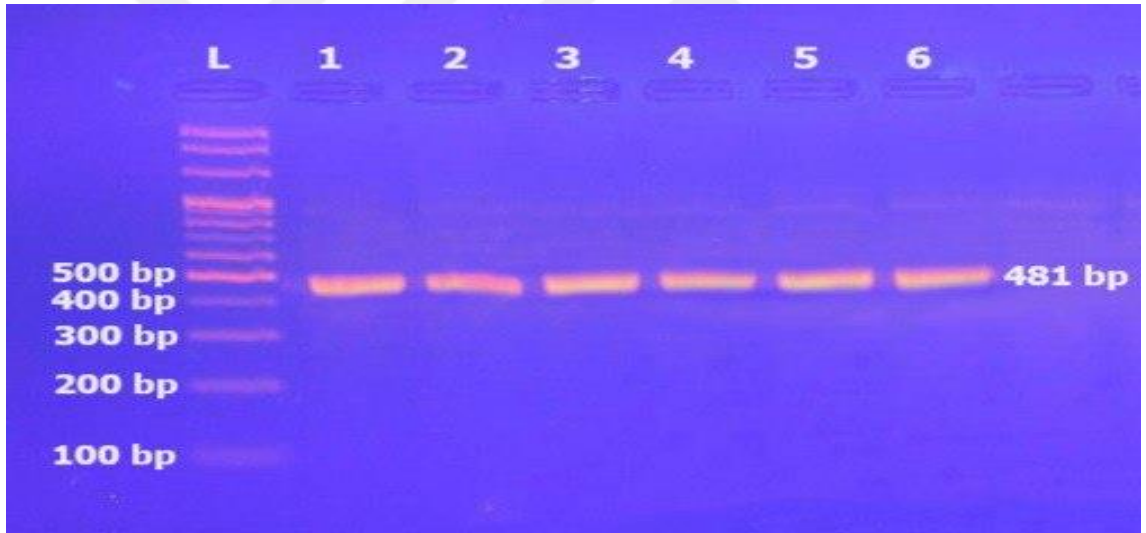
Şekil 4.17 Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak amplifikasyondan sonra 608 bp boyutlu plcH gen fragmanları



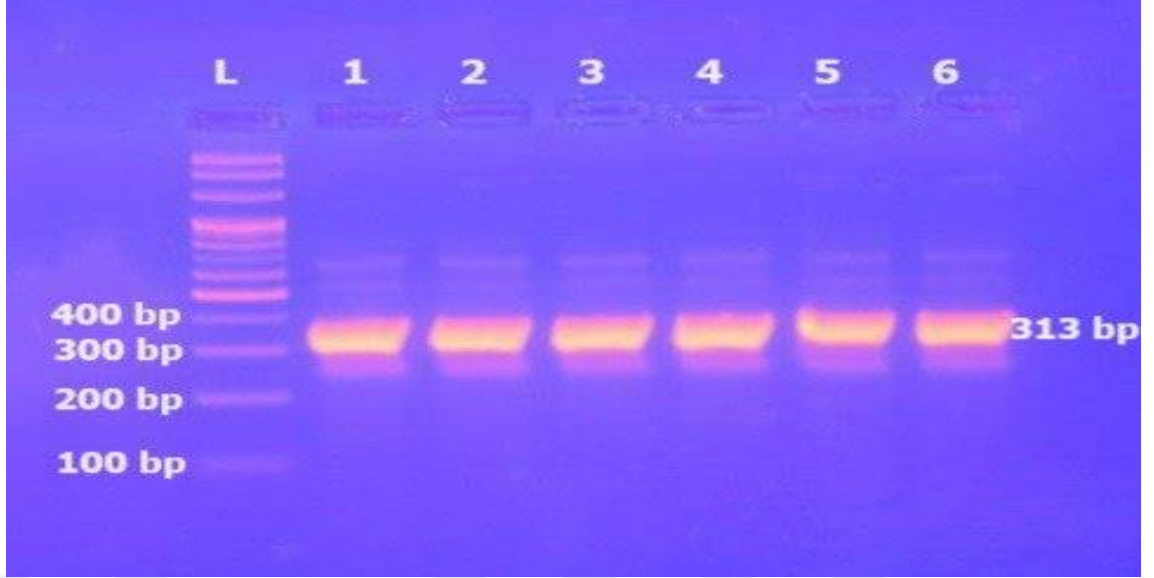
Şekil 4.18 Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak amplifikasyondan sonra 444 bp boyutlu ExoS gen fragmanları



**Şekil 4.19** Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak amplifikasyondan sonra 284 bp boyutlu LasB gen fragmanları



**Şekil 4.20** Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak amplifikasyondan sonra 481 bp boyutlu PlcN gen fragmanları



**Şekil 4.21** Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak amplifikasyondan sonra 313 bp boyutlu AlgD gen fragmanları

Fırsatçı bir patojen olan *Pseudomonas aeruginosa*, çeşitli konak ortamlarında kolonizasyonunu kolaylaştıran çeşitli virülans özelliklerine sahiptir. Bu bakteri, küresel çapta çok sayıda hastalığın önde gelen nedenlerinden biridir (De Bentzmann and Plésiat 2011). *P. aeruginosa*, yanık yaralarında enfeksiyonlara neden olabilen oldukça önemli bir bakteridir (Hojabri *et al.* 2013). Ayrıca, bakterinin aljinat, ekzoenzim S, elastaz ve fosfolipaz gibi virülans faktörleri çeşitli sinyal sistemleri tarafından düzenlenmektedir (Alhede *et al.* 2014). Epidemiyolojik araştırmalarda yüksek derecede patojenik *P. aeruginosa*'nın küresel yayılımı, küresel sağlık sistemi için önemli bir zorluk teşkil etmektedir (Deshpande *et al.* 2004). *P. aeruginosa* enfeksiyonunun klinik sonuçları, konağın bağışıklık tepkisi ve konağın tepkisine karşı koyan bakteriyel virülans faktörleri tarafından belirlenir. Bu çalışmanın amacı, *P. aeruginosa*'daki virülans genlerinin, yani ekzoenzim S, aljinat D, fosfolipaz N, fosfolipaz H ve elastaz B'nin sıklığını konvansiyonel-allel-spesifik PCR kullanarak değerlendirmektir. *P. aeruginosa* Irak'ta yanık ve yaraları olan bireylerden elde edilmiştir. İran'da daha önce yapılan bir araştırma, bakteri izolatlarında lasB ve exoS oluşumunun belirgin şekilde daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (Khalifa *et al.* 2011). Çeşitli araştırma grupları da *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında her bir virülans faktörünün işlevini araştırmıştır. Fransa'da yapılan bir araştırma, exoS insidansının diğer virülans genlerinden daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak, enfeksiyonun şiddeti ve yeri ile virülans faktörleri arasında anlamlı

bir bağlantı görülmemiştir (Faraji *et al.* 2016, Wolska and Szweda 2009). Lee *et al.* (2011), *exoS* geninin akut enfeksiyonlarda önemli bir virülans bileşeni olarak hizmet eden Tip III salgılama sistemini kodladığını göstermiştir. Bu toksin, patojen ile konakçı arasındaki temasın hemen ardından doğrudan konakçı hücreye salgılanır. Daha önce yapılan birçok araştırma *LasB*'nin kistik fibrozisli bireylerin yanı sıra yanık hastalarının pulmoner sisteminde de tespit edildiğini göstermiştir (Kuang *et al.* 2011, Nikbin *et al.* 2012). Enfeksiyonun ilk aşamalarında *LasB* doğrudan akciğerlere zarar verir. Ayrıca, *P. aeruginosa* pulmoner enfeksiyonu olan bireyler genellikle kan damarlarının duvarlarındaki elastinin bozulması nedeniyle pulmoner kanamadan muzdariptir (Kapur *et al.* 2012). Aynı bir araştırma, *lasB* geninin çeşitli enfeksiyon türlerinde önemli bir rol oynadığını ve aktivasyonunun belirli maddelerin varlığıyla bağlantılı olduğunu ortaya koymuştur (Ra'oof 2011). Önceki bulgular *exoS*'nin *P. aeruginosa* ile enfekte hastalarda önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Dahası, bu virülans faktörü fagositoz sürecini engelleyerek enfeksiyonu daha da kötüleştirmektedir (Khalifa *et al.* 2011, Sanders and Goss 2013). Çok sayıda araştırma, enfeksiyonun yeri ile *P. aeruginosa*'nın virülans faktörleri arasında bir bağlantı olduğunu belirlemiştir. Bu araştırmalar, farklı enfeksiyonların ekzoenzim S, fosfolipaz C ve elastaz üretimi ile ilişkili olduğunu gözlemlemiştir (Coggan and Wolfgang 2012). Bazı araştırmalar, elastaz ve fosfolipaz C'nin yüksek düzeyde salgılanmasının tüm enfeksiyon türlerinde çok önemli olduğunu belirtmiştir (Hamood *et al.* 1996). Yu *et al.* (2014), doku infiltrasyonunun elastaz da dahil olmak üzere birçok enzim tarafından kolaylaştırıldığını bulmuştur. Bir başka araştırma, *P. aeruginosa*'da *plcH* geninin sıklığının %96,5 olduğunu tespit etmiştir (Pournajaf *et al.* 2018). Irak'ta yapılan yeni bir çalışma, *plcH* geninin yanık ve yara vakalarında daha yaygın olarak bulunduğunu ortaya koymuştur (Al-Shimmary 2020). *PlcH* geninin yüksek ekspresyonu, hemolitik fosfolipaz C'nin konakçı hücrelere sızma ve enfeksiyonları indüklemesindeki önemini gösterir; burada çeşitli enfeksiyon türleri, epitel hücrelerinde hücre duvarının lipit bileşeninin bozulmasıyla sonuçlanır (Jackson *et al.* 2013). *AlgD*'nin ortaya çıkması, aşırı derecede aljinat üreten mukoid suşlarla bağlantılıdır, dolayısıyla bakteriyi bir biyofilm matrisindeki önemli ekzopolisakkaritlerden koruyarak patojenitesini ve direncini artırır (Whitney *et al.* 2015). Kalıcı enfeksiyon ile *algD* geni arasında güçlü bir ilişki vardır (Mitov *et al.* 2010). Ayrıca, idrar örneklerinden elde edilen *P. aeruginosa* suşları arasında *lasB*, *exoS*, *plcH* ve *algD* oluşumu daha sık görülmüştür

(Elmouaden *et al.* 2019). Farklı bir araştırmaya göre, *P. aeruginosa* izolatlarında üç tip plcN virülansının görülme oranı %86,9 olarak bulunmuştur (Bazghandi *et al.* 2021). Bakterilerde çok çeşitli virülans genlerinin varlığı, çeşitli ortamlara uyum sağlama kapasitelerini ve hızlı evrimsel yeteneklerini gösterir. Bu genler, *P. aeruginosa* suşlarını tespit etmek için tanısal bir virülans belirteci olarak kullanılabilir. Orijinal araştırmada kullanılan bakteri suşu, örnek büyüklüğü, toplama bölgeleri ve izolatlar arasındaki genetik heterojenlik dahil olmak üzere çeşitli faktörler, prevalans gen çalışmalarında gözlemlenen tutarsızlıkları açıklayabilir.

#### 4.7 Numune Türlerine Göre Biyofilm Oluşturma Kapasitesi

Güçlü biyofilm oluşturma yeteneği yaradan toplanan 20 bakteri izolatında (%54,1) yanıktan toplanan 15 izolata (%38,5) kıyasla daha yüksektir. Buna karşılık, orta ve zayıf biyofilm oluşturma kabiliyeti yaradan toplanan bakteri izolatlarında 9 izolat (%24,3) ve 10 izolat (%25,6), yanıktan toplanan bakteri izolatlarında 12 izolat (%30,8) ve 10 izolattan (%25,6) daha düşüktür. Ayrıca, yaradan toplanan izolatlarda 4 izolat (%10,8), yanıktan toplanan izolatlarda 2 izolattan (%5,1) daha yüksek oranda biyofilm oluşumu görülmüştür. Çizelge 4.8'de gösterildiği gibi, biyofilm oluşturma kabiliyetine göre yanık ve yara örnekleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p değeri=0,228).

**Çizelge 4.8** Yara ve yanık örneklerine göre biyofilm oluşumu

		Örnek tipi				P değeri
		Yanık		Yara		
Biyofilm oluşumu	Olumsuz	2	%5,1	4	%10,8	0,228 <sup>NS</sup>
	Zayıf	10	%25,6	4	%10,8	
	Orta	12	%30,8	9	%24,3	
	Güçlü	15	%38,5	20	%54,1	

Yara enfeksiyonu, genellikle yara tedavisiyle bağlantılı olan birincil klinik sonuçtur. Yanık hastaları arasında enfeksiyon, yanıktan kaynaklanan tüm ölümlerin %75'ini oluşturan birincil ölüm nedenidir (Branski *et al.* 2009). Yanık yaralanmaları, hastanın refahı üzerinde uzun süreli sonuçlara yol açabilen çok güçsüzleştirici bir yara kategorisidir (Guest *et al.* 2020). Yanık yaralanmaları nedeniyle hastanın bağışıklık

sistemi önemli ölçüde zayıflar ve enfeksiyonlara karşı hassaslaşır, bu da ciddi bir sorun teşkil eder (Wang *et al.* 2018). Yaranın ciddiyeti ve prognozu, yarığın yüzey alanının genişliği de dahil olmak üzere çeşitli faktörler tarafından yönetilir. Yüzeysel veya birinci derece yanık, epidermis ile sınırlıdır (Pencle *et al.* 2017). Genellikle ikinci derece yanıklar olarak bilinen kısmi kalınlıktaki yanıklar, epidermis ve dermisen daha derin katmanlarını etkiler (Werner *et al.* 2002). Tam kalınlıkta veya üçüncü derece yanıklar hem epidermal hem de dermal katmanların tamamen tahrip olmasına neden olur ve ayrıca alttaki doku ve kemiğe de zarar verebilir (Jiji *et al.* 2019). Her farklı yanık yaralanması derecesi, farklı bir bakteriyel enfeksiyon riskine sahiptir. Yanık ne kadar şiddetli olursa, patojenin kan dolaşımına sızma ve bakteriyemi ve sepsise yol açma olasılığı da o kadar artar. Yanık yarası, çoğunlukla yanık yarası eksüdaları adı verilen biyolojik sıvılardan oluşan karmaşık bir mikro ortamdır. Yanık yarası eksüdaları, yüksek metabolik adaptasyon kabiliyetine sahip bazı enfeksiyonların büyümesi ve çoğalması için elverişli bir ortam sağlayan metabolik ve hücresel özelliklere sahiptir (Gonzalez *et al.* 2018). *P. aeruginosa* gibi fırsatlardan yararlanan patojenlerin yanık yaralarında koloniler oluşturduğu iyi bilinmektedir. Bu spesifik bakteri hastane ortamlarında sıklıkla bulunur ve dünya çapında yanık ünitelerinde salgınlara neden olmuştur. Bu bakterilerin biyofilm oluşturma kapasitesi, hastalığa neden olma kabiliyetlerinde kritik bir faktördür ve yanık yaralarının tedavisini büyük ölçüde zorlaştırır. Ayrıca, yanık ve yaralardan muzdarip bireyler arasında hayatta kalma olasılığı üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir (Percival *et al.* 2015). *P. aeruginosa*'da yanık yarası biyofilm gelişimi, çeşitli çevresel ve genetik değişkenler tarafından yakından düzenlenir. Ekzopolisakkarit sentezi, yanık yaralarında biyofilm oluşumunun karakteristik bir özelliği olarak kabul edilmektedir. Brandenburg *et al.* (2021), tam kalınlıktaki yanık yaralarında *P. aeruginosa* enfeksiyonu vakalarında, kritik faktörlerin ekspresyonunun travmadan sonraki 24 saat içinde arttığını göstermiştir. Bilim camiası artık biyofilm oluşumu sürecinin yaraların iyileşmesi üzerinde olumsuz bir etkisi olduğunu ve kronik yaraların gelişimine katkıda bulunabileceğini kesin olarak ortaya koymuştur (Spear 2013). Biyofilm oluşumunun, inflamatuvar aşamada yaraları tuzağa düşürdüğüne inanılmaktadır çünkü yara bölgesinde toplanan bağışıklık hücreleri biyofilmi ortadan kaldıramamaktadır (Moser *et al.* 2021). Yara bölgesinde bağışıklık hücrelerinin varlığı, yeniden epitelizasyon ve yara kapanma sürecini engelleyen sürekli bir iltihaplanma durumuna yol açar. Uzun süreli yaralar üzerine yapılan araştırmalar,

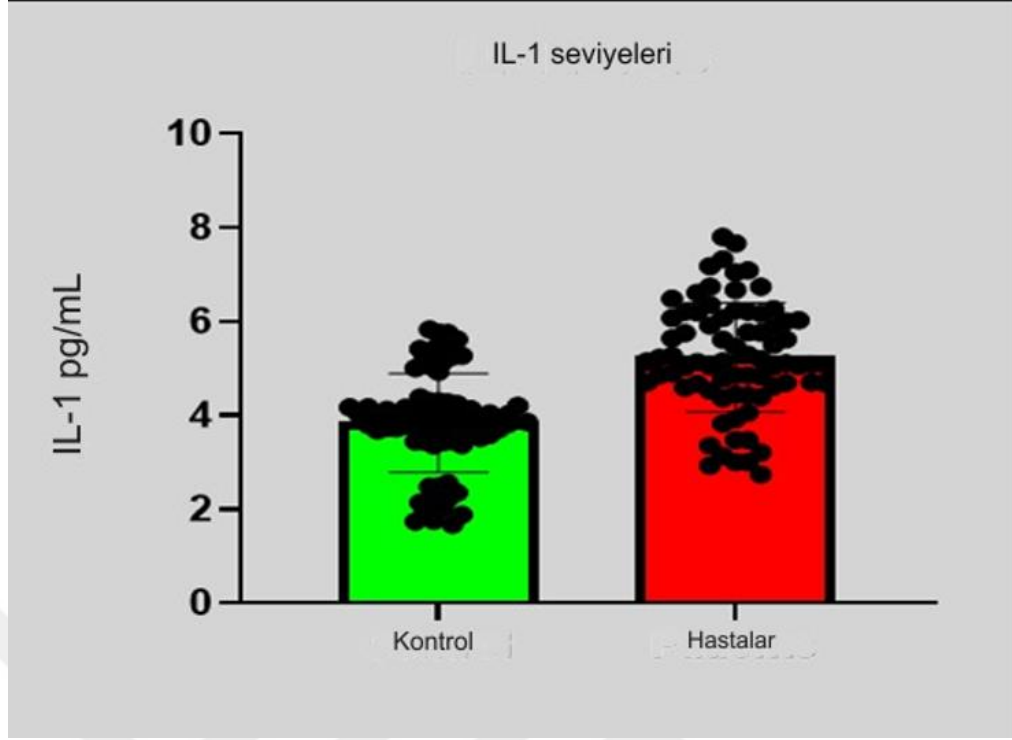
bunların %80'inden fazlasının bir biyofilmle bağlantılı olduğunu göstermektedir (Malone *et al.* 2017). Akut yaralarda biyofilm gelişiminin önemi belirsizdir ve kapsamlı tartışmalara tabidir. Yaralarda biyofilm varlığını tespit etmek için uygun teşhis yöntemlerinin bulunmaması, bu tartışmanın nedenlerinden biridir (Kirketerp-Møller *et al.* 2020). Akut yaralarda biyofilm bulunmasına rağmen, bunların oluşumu oldukça seyrekdir. *In vivo* çalışmalar, biyofilmlerin akut yara modellerinde yaralanmadan 3 gün kadar sonra gelişebileceğini göstermiştir. Araştırmalar, *in vivo* çalışmalarla kanıtlandığı üzere, yanık eskarında biyofilm gelişiminin sistemik enfeksiyondan önce meydana gelebileceğini göstermiştir (Brandenburg *et al.* 2021). Bu bulgular, biyofilmlerin daha derin dokuların istilası için bir başlangıç noktası görevi görerek akut enfeksiyonların seyrine de katkıda bulunabileceğini ve sonuçta bakteriyemi ve sepsise yol açabileceğini göstermektedir (Olsen 2015).

#### 4.8 İnterlökin-1 (IL-1) Serum Seviyeleri

Çizelge 4.9 ve Şekil 4.22, *P. aeruginosa* ile enfekte hastaların ortalama IL-1 serum düzeylerinin ( $5,235 \pm 1,160$  pg/mL) kontrol grubundan ( $3,838 \pm 1,050$  pg/mL) daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca, IL-1 serum seviyeleri açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ( $p$  değeri  $< 0,0001$ ).

Çizelge 4.9 IL-1 serum seviyeleri

IL-1 (pg/mL)	Kontrol grubu	Hasta grubu
Sayı	76	76
Minimum	1,670	2740
Maksimum	5,830	7,800
Ortalama	3,838	5,235
Standart sapma	1,050	1,160
P değeri	<0,0001	



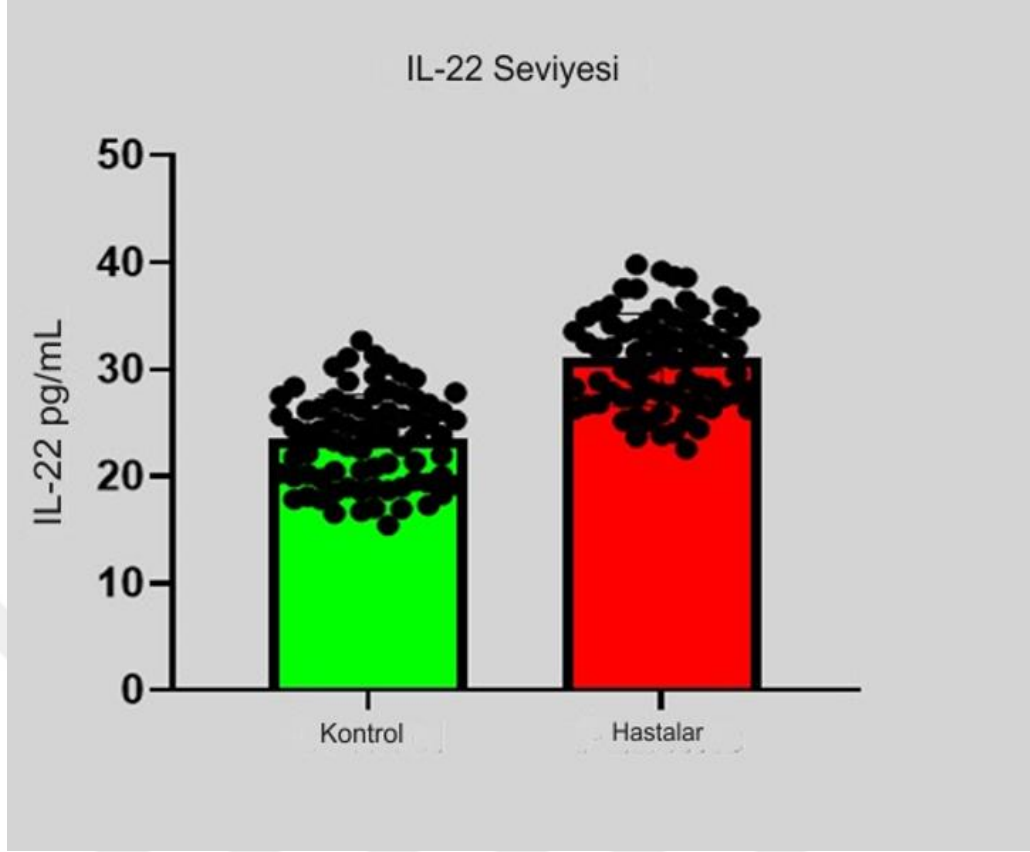
Şekil 4.22 IL-1 serum seviyeleri

#### 4.9 İnterlökin-22 (IL-22) Serum Seviyeleri

Çizelge 4.10 ve Şekil 4.23, *P. aeruginosa* ile enfekte hastalarda ortalama IL-22 serum düzeylerinin ( $30,93 \pm 4,289$  pg/mL) kontrol grubuna ( $23,39 \pm 4,243$  pg/mL) kıyasla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca, IL-22 serum seviyeleri açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı (p değeri  $< 0,0001$ ).

Çizelge 4.10 IL-22 serum seviyeleri

IL-22 (pg/mL)	Kontrol grubu	Hasta grubu
Sayı	76	76
Minimum	15,43	22,55
Maksimum	32,66	39,78
Ortalama	23,39	30,93
Standart sapma	4,243	4,289
P değeri	$< 0,0001$	



Şekil 4.23 IL-22 serum seviyeleri

*Pseudomonas aeruginosa*, başta en sık meydana gelen enfeksiyon noktası olan yaralar olmak üzere, konakçı içindeki çok çeşitli organ ve sistemleri enfekte etme yeteneğine sahiptir. Bu bakteri, mukoza ve deri gibi doğal savunmaya sahip olmayan yerlere yerleştirildiğinde, bozulmalara neden olur (Migiyama *et al.* 2016). Sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri gibi sinyal molekülleri salgılayarak yaranın enfeksiyonuna yanıt veren bağışıklık sistemi hücreleridir ve bunların hepsi hücreler arası iletişimi teşvik eder (Strbo *et al.* 2014). IL-1'in, tehlike sinyallerinin bir sonucu olarak enfeksiyona yanıt olarak inflamatuvar tepkilerin indüklenmesinde önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir (Fahey and Doyle 2019). Bu reaksiyonlar, enfeksiyonun etrafındaki hücreleri bariyerin yaklaşan ihlaline karşı uyarır ve bakterileri ve diğer patojenleri ortadan kaldırmak için enfeksiyon bölgesine nötrofilleri toplar. Fibroblastların uyarılmasına ek olarak keratinositlerin hem göçü hem de çoğalması artar (Al-Jebouri and Al-Mahmood 2019). Ayrıca, IL-22, epitelyal dokularda önemli bir pro-inflamatuvar etkiye sahip olma yeteneğine sahiptir, bu da epitelyal hücrelerin korunmasında ve inflamatuvar koşullar

mevcut olduğunda doku yanıtının kontrolünde bir işlev görür, hücre proliferasyonu, doku rejenerasyonu ve hücresel savunma dahil olmak üzere çok çeşitli görevlerden sorumludur (Avitabile *et al.* 2015). Önceki bir çalışmaya göre, *P. aeruginosa* ile enfekte olan pnömonik farelerin serumlarında daha yüksek IL-1 seviyeleri bulunmuştur (Schultz *et al.* 2002). Ayrıca, IL-22 seviyelerinin *P. aeruginosa* enfeksiyonundan sonraki ilk yirmi dört saat içinde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. *P. aeruginosa*'ya karşı dengeli bir bağışıklık yanıtı oluşturmak söz konusu olduğunda, IL-1 ve IL-22 arasındaki etkileşim kesinlikle çok önemlidir. IL-1 savaşı başlatmaktan sorumluyken, IL-22 inflamasyonun düzenlenmesine yardımcı olur ve dokuların korunmasını destekler. İnsanlarda *P. aeruginosa* ile enfeksiyon sırasında bu sitokinler ve diğer bağışıklık bileşenleri arasında gerçekleşen karmaşık etkileşimlerin tam olarak anlaşılabilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Aşırı miktarda IL-1'in dokuya zarar verme potansiyeline sahip olması nedeniyle, terapötik nedenlerle bu yolun ele alınması dikkatli bir değerlendirme gerektirir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, *P. aeruginosa* bakterisi ile enfeksiyon oranının yanık ve yaralardan muzdarip ergenler ve genç yetişkinler arasında yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum, bu yaşlardaki insanların daha aktif olduğunu ve kazalara ve tedavilerindeki ihmale karşı daha savunmasız olduklarını göstermektedir. Ayrıca enfekte hasta sayısı kadınlarda daha yüksek olarak belirlenmiştir. Bu durum, özellikle ev işlerinde yanık ve yaralara maruz kalma konusunda daha savunmasız olabilecek kadınların işinin doğasını göstermektedir.

Yanıklardan izole edilen bakterilerin yüzdesi yaralardan izole edilenlerden daha yüksektir ve bu durum, bu bakterinin eş zamanlı bakteriyel enfeksiyonu olan yara vakalarını şiddetlendirmede ve tedavisini zorlaştırmada oynadığı rolün önemini göstermektedir. İzolatların çoğunluğu biyofilm oluşturma yeteneğine sahiptir, bu da biyofilmin özellikle yanık ve yara enfeksiyonlarında *P. aeruginosa* bakterisi için en önemli virülans faktörlerinden biri olarak kabul edildiğini göstermektedir. Bakteri izolatları birçok antibiyotiğe karşı yüksek düzeyde direnç göstermiştir, bu da bu bakterilerin tehlikesinin sadece patojenik virülanslarıyla sınırlı olmadığını, aynı zamanda ilaçlara karşı dirençli olduklarını ve bu enfeksiyonların tespit edilmesini ve onlar için uygun ilacın seçilmesini zorlaştırdığını göstermektedir.

Bu çalışma sırasında bakteri izolatları arasında yüksek gen yüzdeleri belirlenmiştir, bu da bu genlerin *P. aeruginosa* ile enfekte olmuş yanık ve yara vakalarında ortaya çıkan patolojide önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Hastalarda kontrollere kıyasla yüksek düzeyde IL-1 ve IL-22 bulunmuştur, bu da bu interlökinlerin *P. aeruginosa* bakterilerinin patogenezinde önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir, çünkü IL-1 bağışıklık yanıtını geliştirirken, IL-22 bağışıklık yanıtının kontrolüne yardımcı olmaktadır.

Çeşitli klinik ortamlardan tespit edilen *P. aeruginosa*'nın antibiyotik direnciyle ilişkili genlerin araştırılması için daha fazla araştırma yapılması ve bunların karşı karşıya oldukları terapötik problemdeki rollerinin tanınması gerekmektedir. Bu doğrultuda, aljinatı kodlayan gen dizilimlerini sınır ülkelerdekilerle karşılaştırmak ve bu genlerin

biyofilm oluşumunda oynadığı rolü keşfetmek için daha fazla çalışmanın yapılması, efluks pompası geninin ekspresyonunun değerlendirilerek çoklu ilaç direnci gelişimindeki rolünün belirlenmesi, mutasyonların ve diğer izolatlarla farklılıkların olup olmadığını belirlemek için virölansı kodlayan genlerin sekanslanması ve evre bölgeden diğer izolatlarla karşılaştırılması önerilmektedir.



## KAYNAKLAR

- Abdi, F. A., Motumma, A. N., Kalayu, A. A. and Abegaz, W. E. 2024. Prevalence and antimicrobial-resistant patterns of *Pseudomonas aeruginosa* among burn patients attending Yekatit 12 Hospital Medical College in Addis Ababa, Ethiopia. *PloS One*, 19(3): 289586.
- Afshari, A., Pagani, L. and Harbarth, S. 2012. Year in review 2011: Critical care-infection. *Critical Care Medicine*, 16(6): 242.
- Ahmed, O. B. 2016. Incidence and antibiotic susceptibility pattern of *pseudomonas aeruginosa* isolated from inpatients in two Tertiary Hospitals. *Journal of Clinical Microbiology*, 5(2): 248-252.
- Ahmed, S., Najati, A. and Abass, K. S. 2019. Isolation and identification of multi-drug resistant “*pseudomonas aeruginosa*” from burn wound infection in Kirkuk City, Iraq. *Eurasian Journal of Medicine*, 13(2): 1045-1050.
- Ahmed, S., Najati, A. and Abass, K. S. 2020. Prevalence and antibiotic resistance of “*pseudomonas aeruginosa*” isolated from clinical samples in Kirkuk City, Iraq. 14(9): 1821-1825.
- Akova, M. 2016. Epidemiology of antimicrobial resistance in bloodstream infections. *Virulence*, 7(3): 252-266.
- Alatraktchi, F. A. A., Svendsen, W. E. and Molin, S. 2020. Electrochemical detection of pyocyanin as a biomarker for *Pseudomonas aeruginosa*: A focused review. *Sensors*, 20(18): 5218.
- Aldred, K. J., Kerns, R. J. and Osheroff, N. 2014. Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*, 53(10): 1565-1574.
- Aldrovandi, M., Banthiya, S., Meckelmann, S., Zhou, Y., Heydeck, D., O'Donnell, V. B. and Kuhn, H. 2018. Specific oxygenation of plasma membrane phospholipids by *Pseudomonas aeruginosa* lipoxxygenase induces structural and functional alterations in mammalian cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1863(2): 152-164.
- Algburi, A., Comito, N., Kashtanov, D., Dicks, L. M. and Chikindas, M. L. 2017. Control of biofilm formation: antibiotics and beyond. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(3): 2508-2516.

- Alhazmi, A. 2018. NOD-like receptor(s) and host immune responses with *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Inflammation Research: Official Journal of the European Histamine Research Society*, 67(6): 479-493.
- Alhede, M., Bjarnsholt, T., Givskov, M. and Alhede, M. 2014. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: mechanisms of immune evasion. *Advances in Applied Microbiology*, 86(11): 1-40.
- Al-Jebouri, M. M. and Al-Mahmood, B. Y. R. 2019. Estimation of cytokines involved in acute-phase wound infection with reference to residence time of patients in hospitals. *Modern Research in Inflammation*, 8(1): 1-10.
- Al-Saffar, M. F. and Jarallah, E. M. 2019. Isolation and characterization of *Pseudomonas aeruginosa* from Babylon province. *Biochemical and Cellular Archives*, 19(1): 1098.
- Al-Shimmary, S. M. 2020. Molecular identification and prevalence of some virulence genes among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iraqi patients. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 1(2): 903.
- Al-Zaidi, J. R. 2016. Antibiotic susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical and hospital environmental samples in Nasiriyah, Iraq. *African Journal of Microbiology Research*, 10(23): 844-849.
- Arber, W. 2014. Horizontal gene transfer among bacteria and its role in biological evolution. *Life*, 4(2): 217-224.
- Askoura, M., Mottawea, W., Abujamel, T. and Taher, I. 2011. Efflux pump inhibitors (EPIs) as new antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa*. *The Libyan Journal of Medicine*, 6(98): 187-245.
- Avitabile, S., Odorisio, T., Madonna, S., Eyerich, S., Guerra, L., Eyerich, K. and Cianfarani, F. 2015. Interleukin-22 promotes wound repair in diabetes by improving keratinocyte pro-healing functions. *Journal of Investigative Dermatology*, 135(11): 2862-2870.
- Balaban, N. Q., Gerdes, K., Lewis, K. and McKinney, J. D. 2013. A problem of persistence: Still more questions than answers?. *Nature Reviews. Microbiology*, 11(8): 587-591.
- Basler, M., Ho, B. T. and Mekalanos, J. J. 2013. Tit-for-tat: Type VI secretion system counterattack during bacterial cell-cell interactions. *Cell*, 152(4): 884-894.

- Bazghandi, S. A., Arzanlou, M., Peeridogaheh, H., Vaez, H., Sahebkar, A. and Khademi, F. 2021. Prevalence of virulence genes and drug resistance profiles of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 14(8): 452.
- Berrazeg, M., Jeannot, K., Ntsogo Enguéné, V. Y., Broutin, I., Loeffert, S., Fournier, D. and Plésiat, P. 2015. Mutations in  $\beta$ -lactamase AmpC increase resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates to antipseudomonal cephalosporins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(10): 6248-6255.
- Bhattacharjee, A., Garg, A., Sen, M. and Anupurba, S. 2006. Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from wound infections. *Indian Journal of Dermatology*, 51(4): 286.
- Bilton, D. 2008. Update on non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, 14(6): 595-599.
- Bjarnsholt, T., Jensen, P. Ø., Jakobsen, T. H., Phipps, R., Nielsen, A. K., Rybtke, M. T. and Scandinavian Cystic Fibrosis Study Consortium. 2010. Quorum sensing and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* during lung infection of cystic fibrosis patients. *PloS One*, 5(4): 10115.
- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O. and Piddock, L. J. V. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews. Microbiology*, 13(1): 42-51.
- Bleves, S. 2016. Game of trans-kingdom effectors. *Trends in microbiology*, 24(10): 773-774.
- Bleves, S., Viarre, V., Salacha, R., Michel, G. P. F., Filloux, A. and Voulhoux, R. 2010. Protein secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*: A wealth of pathogenic weapons. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(8): 534-543.
- Bouffartigues, E., Moscoso, J. A., Duchesne, R., Rosay, T., Fito-Boncompte, L., Gicquel, G. and Chevalier, S. 2015. The absence of the *Pseudomonas aeruginosa* OprF protein leads to increased biofilm formation through variation in c-di-GMP level. *Frontiers in Microbiology*, 6(9): 630.
- Bouillot, S., Pont, S., Gallet, B., Moriscot, C., Deruelle, V., Attrée, I. and Huber, P. 2020. Inflammasome activation by *Pseudomonas aeruginosa*'s ExlA pore-forming toxin is detrimental for the host. *Cellular Microbiology*, 22(11): 13251.

- Bradshaw, J. L., Caballero, A. R., Bierdeman, M. A., Adams, K. V., Pipkins, H. R., Tang, A. and McDaniel, L. S. 2018. *Pseudomonas aeruginosa* protease IV exacerbates pneumococcal pneumonia and systemic disease. *MSphere*, 3(3): 1110-1128.
- Brandenburg, K. S., Weaver Jr, A. J., Karna, S. L. R. and Leung, K. P. 2021. The impact of simultaneous inoculation of *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans* on rodent burn wounds. *Burns*, 47(8): 1818-1832.
- Branski, L. K., Al-Mousawi, A., Rivero, H., Jeschke, M. G., Sanford, A. P. and Herndon, D. N. 2009. Emerging infections in burns. *Surgical Infections*, 10(5): 389-397.
- Breidenstein, E. B. M., De La Fuente-Núñez, C. and Hancock, R. E. W. 2011. *Pseudomonas aeruginosa*: All roads lead to resistance. *Trends in Microbiology*, 19(8): 419-426.
- Bruchmann, S., Dötsch, A., Nouri, B., Chaberny, I. F. and Häussler, S. 2013. Quantitative contributions of target alteration and decreased drug accumulation to *Pseudomonas aeruginosa* fluoroquinolone resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(3): 1361-1368.
- Buhl, M., Peter, S. and Willmann, M. 2015. Prevalence and risk factors associated with colonization and infection of extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: a systematic review. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 13(9): 1159-1170.
- Burrows, L. L. 2012. *Pseudomonas aeruginosa* twitching motility: type IV pili in action. *Annual Review of Microbiology*, 66(7): 493-520.
- Bush, K. and Jacoby, G. A. 2010. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3): 969-976.
- Byrne, B. A. 2013. Laboratory diagnosis of bacterial infections. *Equine Infectious Diseases*, 13(7): 257.
- Cabot, G., Zamorano, L., Moyà, B., Juan, C., Navas, A., Blázquez, J. and Oliver, A. 2016. Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial resistance and fitness under low and high mutation rates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(3): 1767-1778.
- Campodónico, V. L., Llosa, N. J., Grout, M., Döring, G., Maira-Litrán, T. and Pier, G. B. 2010. Evaluation of flagella and flagellin of *Pseudomonas aeruginosa* as vaccines. *Infection and Immunity*, 78(2): 746-755.

- Carlet, J., Ben Ali, A., Tabah, A., Willems, V., Philippart, F., Chafine, A. and Misset, B. 2007. Multidrug resistant infections in the ICU: Mechanisms, prevention and treatment. *Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft*, 25(1): 199-211.
- Cattaneo, C., Antoniazzi, F., Casari, S., Ravizzola, G., Gelmi, M., Pagani, C. and Rossi, G. 2012. *P. aeruginosa* bloodstream infections among hematological patients: an old or new question?. *Annals of Hematology*, 91(2): 1299-1304.
- Cavalcanti, F. L. D. S., Mirones, C. R., Paucar, E. R., Montes, L. Á., Leal-Balbino, T. C., Morais, M. M. C. D. and Ocampo-Sosa, A. A. 2015. Mutational and acquired carbapenem resistance mechanisms in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Recife, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(76): 1003-1009.
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention. 2010. Antibiotic resistance questions and answers. *Centers for Disease Control and Prevention*, 10(3): 5-8.
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention. 2018. *Pseudomonas aeruginosa* in healthcare settings. *Centers for Disease Control and Prevention*, 18(8): 10-40.
- Cegelski, L., Marshall, G. R., Eldridge, G. R. and Hultgren, S. J. 2008. The biology and future prospects of antivirulence therapies. *Nature Reviews Microbiology*, 6(1): 17-27.
- Chadha, J., Harjai, K. and Chhibber, S. 2022. Revisiting the virulence hallmarks of *Pseudomonas aeruginosa*: A chronicle through the perspective of quorum sensing. *Environmental Microbiology*, 24(6): 2630-2656.
- Charan, A. R., Reddy, V. P., Reddy, P. N., Reddy, S. S. and Sivaramakrishnan, S. 2011. Assessment of genetic diversity in *Pseudomonas fluorescens* using PCR-based methods. *Bioremediat Biodivers Bioavailab*, 5(1): 10-16.
- Chatterjee, M., Anju, C. P., Biswas, L., Kumar, V. A., Mohan, C. G. and Biswas, R. 2016. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. *International Journal of Medical Microbiology*, 306(1): 48-58.
- Chellat, M. F., Raguž, L. and Riedl, R. 2016. Targeting antibiotic resistance. *Angewandte Chemie*, 55(23): 6600-6626.
- Chemaly, R. F., Simmons, S., Dale, C., Ghantaji, S. S., Rodriguez, M., Gubb, J. and Stibich, M. 2014. The role of the healthcare environment in the spread of multidrug-

- resistant organisms: update on current best practices for containment. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 2(4): 79-90.
- Chen, K., McAleer, J. P., Lin, Y., Paterson, D. L., Zheng, M., Alcorn, J. F. and Kolls, J. K. 2011. Th17 cells mediate clade-specific, serotype-independent mucosal immunity. *Immunity*, 35(6): 997-1009.
- Cherny, K. E. and Sauer, K. 2019. *Pseudomonas aeruginosa* requires the DNA-specific endonuclease EndA to degrade extracellular genomic DNA to disperse from the biofilm. *Journal of Bacteriology*, 201(18): 1010-1128.
- Chevalier, S., Bouffartigues, E., Bodilis, J., Maillot, O., Lesouhaitier, O., Feuilloley, M. G. and Cornelis, P. 2017. Structure, function and regulation of *Pseudomonas aeruginosa* porins. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(5): 698-722.
- Ciofu, O. and Tolker-Nielsen, T. 2019. Tolerance and resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to antimicrobial agents—how *P. aeruginosa* can escape antibiotics. *Frontiers in Microbiology*, 10(7): 453354.
- Coggan, K. A. and Wolfgang, M. C. 2012. Global regulatory pathways and cross-talk control *pseudomonas aeruginosa* environmental lifestyle and virulence phenotype. *Current Issues in Molecular Biology*, 14(2): 47-70.
- Collee, J. G., Miles, R. S. and Watt, B. 1996. Tests for the identification of bacteria. Churchill Livingstone, 912 page, London.
- Corehtash, Z. G., Khorshidi, A., Firoozeh, F., Akbari, H. and Aznavah, A. M. 2015. Biofilm formation and virulence factors among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8(10): 22345.
- Cornelis, P. 2010. Iron uptake and metabolism in pseudomonads. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(6): 1637-1645.
- Craig, L., Forest, K. T. and Maier, B. 2019. Type IV pili: Dynamics, biophysics and functional consequences. *Nature Reviews Microbiology*, 17(7): 429-440.
- Dar, H. H., Anthonymuthu, T. S., Ponomareva, L. A., Souryavong, A. B., Shurin, G. V., Kapralov, A. O. and Kagan, V. E. 2021. A new thiol-independent mechanism of epithelial host defense against *Pseudomonas aeruginosa*: iNOS/NO• sabotage of theft-ferroptosis. *Redox Biology*, 45(7): 102045.
- Dash, M., Padhi, S., Narasimham, M. and Pattnaik, S. 2014. Antimicrobial resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from various clinical samples in a

- tertiary care hospital, South Odisha, India. *Saudi Journal for Health Sciences*, 3(1): 15.
- Daury, L., Orange, F., Taveau, J. C., Verchère, A., Monlezun, L., Gounou, C. and Lambert, O. 2016. Tripartite assembly of RND multidrug efflux pumps. *Nature Communications*, 7(1): 10731.
- De Bentzmann, S. and Plésiat, P. 2011. The *Pseudomonas aeruginosa* opportunistic pathogen and human infections. *Environmental Microbiology*, 13(7): 1655-1665.
- Deshpande, L. M., Fritsche, T. R. and Jones, R. N. 2004. Molecular epidemiology of selected multidrug-resistant bacteria: A global report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 49(4): 231-236.
- Dickey, S. W., Cheung, G. Y. C. and Otto, M. 2017. Different drugs for bad bugs: antivirulence strategies in the age of antibiotic resistance. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 16(7): 457-471.
- Diggle, S. P. and Whiteley, M. 2020. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology*, 166(1): 30-33.
- Djordjevic, Z., Folic, M. M., Zivic, Z., Markovic, V. and Jankovic, S. M. 2013. Nosocomial urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species: Sensitivity to antibiotics and risk factors. *American Journal of Infection Control*, 41(12): 1182-1187.
- Donlan, R. M. 2001. Biofilms and device-associated infections. *Emerging Infectious Diseases*, 7(2): 277-281.
- Dostert, M., Trimble, M. J. and Hancock, R. E. W. 2021. Antibiofilm peptides: overcoming biofilm-related treatment failure. *RSC Advances*, 11(5): 2718-2728.
- Dosunmu, E. F., Emeh, R. O., Dixit, S., Bakeer, M. K., Coats, M. T., Owen, D. R. and Dennis, V. A. 2017. The anti-microbial peptide TP359 attenuates inflammation in human lung cells infected with *Pseudomonas aeruginosa* via TLR5 and MAPK pathways. *PloS One*, 12(5): 176640.
- Döring, G. 2010. Prevention of *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(8): 573-577.
- Dreier, J. and Ruggerone, P. 2015. Interaction of antibacterial compounds with RND efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in Microbiology*, 6(7): 660.

- Ekrem, K. and Rokan, D. K. 2014. Antibiotic susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from various clinical specimens. *Sky Journal of Microbiology Research*, 2(2): 13-17.
- El’Garch, F., Jeannot, K., Hocquet, D., Llanes-Barakat, C. and Plésiat, P. 2007. Cumulative effects of several nonenzymatic mechanisms on the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(3): 1016-1021.
- Elgohari, S., Wilson, J., Saei, A., Sheridan, E. A. and Lamagni, T. 2017. Impact of national policies on the microbial aetiology of surgical site infections in acute NHS hospitals in England: analysis of trends between 2000 and 2013 using multi-centre prospective cohort data. *Epidemiology and Infection*, 145(5): 957-969.
- El-Khashaab, T. H., Erfan, D. M., Kamal, A., El-Moussely, L. M. and Ismail, D. K. 2016. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and quorum sensing lasR gene in patients with wound infection. *The Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 25(1): 19-23.
- Ellis, T. N. and Kuehn, M. J. 2010. Virulence and immunomodulatory roles of bacterial outer membrane vesicles. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(1): 81-94.
- Elmanama, A. A., Al-Sheboul, S. and Abu-Dan, R. I. 2020. Antimicrobial Resistance and Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents*, 10(2): 1903.
- Elmouaden, C., Laglaoui, A., Ennanei, L., Bakkali, M. and Abid, M. 2019. Virulence genes and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients in the Northwestern of Morocco. *Journal of Infection in Developing Countries*, 13(10): 892-898.
- Elsen, S., Huber, P., Bouillot, S., Couté, Y., Fournier, P., Dubois, Y. and Attrée, I. 2014. A type III secretion negative clinical strain of *Pseudomonas aeruginosa* employs a two-partner secreted exolysin to induce hemorrhagic pneumonia. *Cell Host and Microbe*, 15(2): 164-176.
- Fahey, E. and Doyle, S. L. 2019. IL-1 family cytokine regulation of vascular permeability and angiogenesis. *Frontiers in Immunology*, 10(7): 462450.

- Faraji, F., Mahzounieh, M., Ebrahimi, A., Fallah, F., Teymournejad, O. and Lajevardi, B. 2016. Molecular detection of virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from children with Cystic Fibrosis and burn wounds in Iran. *Microbial Pathogenesis*, 99(76): 1-4.
- Fernández, L. and Hancock, R. E. W. 2012. Adaptive and mutational resistance: Role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(4): 661-681.
- Flemming, H.-C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A. and Kjelleberg, S. 2016. Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nature Reviews. Microbiology*, 14(9): 563-575.
- Franklin, M. J., Nivens, D. E., Weadge, J. T. and Howell, P. L. 2011. Biosynthesis of the *Pseudomonas aeruginosa* extracellular polysaccharides, alginate, Pel, and Psl. *Frontiers in Microbiology*, 2(6): 167.
- Gad, G. F., El-Domany, R. A., Zaki, S. and Ashour, H. M. 2007. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical and environmental samples in Minia, Egypt: prevalence, antibiogram and resistance mechanisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(5): 1010-1017.
- Gelibo, T., Gedamu, S., Anbessa, G. and Bitew, M. 2014. Drug sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* from wound infections in Jimma University Specialized Hospital, Ethiopia. *Journal of Medicine and Medical Science Research*, 3(4): 13-18.
- Gnauck, A., Lentle, R. G. and Kruger, M. C. 2016. The Characteristics and Function of Bacterial Lipopolysaccharides and Their Endotoxic Potential in Humans. *International Reviews of Immunology*, 35(3): 189-218.
- Gonzalez, M. R., Ducret, V., Leoni, S., Fleuchot, B., Jafari, P., Raffoul, W. and Perron, K. 2018. Transcriptome analysis of *Pseudomonas aeruginosa* cultured in human burn wound exudates. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8(3): 39.
- Gonzalez, M. R., Fleuchot, B., Lauciello, L., Jafari, P., Applegate, L. A., Raffoul, W. and Perron, K. 2016. Effect of human burn wound exudate on *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *Mosphere*, 1(2): 10-1128.

- Guest, J. F., Fuller, G. W. and Edwards, J. 2020. Cohort study evaluating management of burns in the community in clinical practice in the UK: Costs and outcomes. *BMJ Open*, 10(4): 35345.
- Guilbaud, M., Bruzard, J., Bouffartigues, E., Orange, N., Guillot, A., Aubert-Frambourg, A. and Bellon-Fontaine, M. N. 2017. Proteomic response of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 adhering to solid surfaces. *Frontiers in Microbiology*, 8(4): 1465.
- Hainrichson, M., Yaniv, O., Cherniavsky, M., Nudelman, I., Shallom-Shezifi, D., Yaron, S. and Baasov, T. 2007. Overexpression and initial characterization of the chromosomal aminoglycoside 3'-O-phosphotransferase APH(3')-IIb from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(2): 774-776.
- Hall, S., McDermott, C., Anoopkumar-Dukie, S., McFarland, A. J., Forbes, A., Perkins, A. V. and Grant, G. D. 2016. Cellular effects of pyocyanin, a secreted virulence factor of *Pseudomonas aeruginosa*. *Toxins*, 8(8): 236.
- Hall-Stoodley, L. and Stoodley, P. 2009. Evolving concepts in biofilm infections. *Cellular Microbiology*, 11(7): 1034-1043.
- Hamood, A. N., Griswold, J. A. and Duhan, C. M. 1996. Production of extracellular virulence factors by *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from tracheal, urinary tract, and wound infections. *The Journal of Surgical Research*, 61(2): 425-432.
- Hasan, S. A., Najati, A. M. and Abass, K. S. 2020. Prevalence and antibiotic resistance of "pseudomonas aeruginosa" isolated from clinical samples in Kirkuk City, Iraq. *Eurasian Journal of Biosciences*, 14(1): 1821-1825.
- Hassan, R., El-Nagggar, W., Abd El-Aziz, A. M., Shaaban, M., Kenawy, H. I. and Ali, Y. M. 2018. Immunization with outer membrane proteins (OprF and OprI) and flagellin B protects mice from pulmonary infection with mucoid and nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 51(3): 312-320.
- Henderson, I. R., Navarro-Garcia, F., Desvaux, M., Fernandez, R. C. and Ala'Aldeen, D. 2004. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(4): 692-744.

- Henrichfreise, B., Wiegand, I., Pfister, W. and Wiedemann, B. 2007. Resistance mechanisms of multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from Germany and correlation with hypermutation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(11): 4062-4070.
- Hirayama, T., Kato, I., Matsuda, F. and Noda, M. 1983. Crystallization and some properties of leukocidin from *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology and Immunology*, 27(7): 575-588.
- Hogardt, M. and Heesemann, J. 2013. Microevolution of *Pseudomonas aeruginosa* to a chronic pathogen of the cystic fibrosis lung. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 358 (3): 91-118.
- Hojabri, Z., Rezaee, M. A., Nahaei, M. R., Soroush, M. H., Ghojzadeh, M., Pirzadeh, T. and Aghazadeh, M. 2013. Comparison of in vitro activity of doripenem versus old carbapenems against *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from both CF and burn patients. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3(1): 121.
- Hong, D. J., Bae, I. K., Jang, I. H., Jeong, S. H., Kang, H. K. and Lee, K. 2015. Epidemiology and characteristics of metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and Chemotherapy*, 47(2): 81.
- Hood, R. D., Singh, P., Hsu, F., Güvener, T., Carl, M. A., Trinidad, R. R. and Mougous, J. D. 2010. A type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* targets a toxin to bacteria. *Cell Host and Microbe*, 7(1): 25-37.
- Horna, G. and Ruiz, J. 2021a. Type 3 secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiological Research*, 246(1): 126719.
- Horna, G. and Ruiz, J. 2021b. Type 3 secretion system as an anti-*Pseudomonas* target. *Microbial Pathogenesis*, 155(1): 104907.
- Horna, G., Amaro, C., Palacios, A., Guerra, H. and Ruiz, J. 2019. High frequency of the *exoU*<sup>+</sup>/*exoS*<sup>+</sup> genotype associated with multidrug-resistant “high-risk clones” of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Peruvian hospitals. *Scientific Reports*, 9(1): 10874.
- Hunter, J. D. 2012. Ventilator associated pneumonia. *BMJ*, 344(3): 3325.
- Huszczynski, S. M., Lam, J. S. and Khursigara, C. M. 2019. The role of *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide in bacterial pathogenesis and physiology. *Pathogens*, 9(1): 6.

- Ijaz, M., Siddique, A. B., Rasool, M. H. and Shafique, M. 2019. Frequency of multi drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in different wound types of hospitalized patients. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32(2): 865-870.
- Issa, M. A., Ghaima, K. K., Saleh, M. B. and Nader, M. I. 2018. Antibioqram study and prevalence of psl<sub>A</sub> gene among biofilm *Pseudomonas aeruginosa* producers isolated from some clinical specimens in thi\_qar province. *Pakistan Journal of Biotechnology*, 15(3): 681-688.
- Jackson, A. A., Gross, M. J., Daniels, E. F., Hampton, T. H., Hammond, J. H., Vallet-Gely, I. and Hogan, D. A. 2013. Anr and its activation by PlcH activity in *Pseudomonas aeruginosa* host colonization and virulence. *Journal of Bacteriology*, 195(13): 3093-3104.
- Javiya, V. A., Ghatak, S. B., Patel, K. R. and Patel, J. A. 2008. Antibiotic susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* at a tertiary care hospital in Gujarat, India. *Indian Journal of Pharmacology*, 40(5): 230-234.
- Jawad, R. A. Z. 2016. Antibiotic susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical and hospital environmental samples in Nasiriyah, Iraq. *African Journal of Microbiology Research*, 10(23): 844-849.
- Jeddou, F. B. 2021. Responses of *Pseudomonas aeruginosa* and other ESKAPE pathogens to antimicrobial peptide dendrimers. PhD. Thesis, Université de Genève, 164 page, Genève.
- Jiji, S., Udhayakumar, S., Rose, C., Muralidharan, C. and Kadirvelu, K. 2019. Thymol enriched bacterial cellulose hydrogel as effective material for third degree burn wound repair. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122(78): 452-460.
- Johnson, L. E., D'Agata, E. M. C., Paterson, D. L., Clarke, L., Qureshi, Z. A., Potoski, B. A. and Peleg, A. Y. 2009. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia over a 10- year period: multidrug resistance and outcomes in transplant recipients. *Transplant Infectious Disease*, 11(3): 227-234.
- Juan, C., Maciá, M. D., Gutiérrez, O., Vidal, C., Pérez, J. L. and Oliver, A. 2005. Molecular mechanisms of  $\beta$ -lactam resistance mediated by AmpC hyperproduction in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(11): 4733-4738.

- Kang, D., Turner, K. E. and Kirienko, N. V. 2017. PqsA promotes pyoverdine production via biofilm formation. *Pathogens*, 7(1): 3.
- Kapur, N., Grimwood, K., Masters, I. B., Morris, P. S. and Chang, A. B. 2012. Lower airway microbiology and cellularity in children with newly diagnosed non-CF bronchiectasis. *Pediatric Pulmonology*, 47(3): 300-307.
- Khalifa, A. B. H., Moissenet, D., Thien, H. V. and Khedher, M. 2011. Virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and modes of regulation. In *Annales de Biologie Clinique*, 69(4): 393-403.
- Khosravi, A. D., Motahar, M. and Abbasi Montazeri, E. 2017. The frequency of class 1 and 2 integrons in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in a burn center of Ahvaz, Iran. *PloS One*, 12(8): 183061.
- Khosravi, A. D., Taei, S., Dezfouli, A. A., Meghdadi, H. and Shafie, F. 2019. Investigation of the prevalence of genes conferring resistance to carbapenems in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from burn patients. *Infection and Drug Resistance*, 12(4): 1153-1159.
- Kirketerp-Møller, K., Stewart, P. S. and Bjarnsholt, T. 2020. The zone model: A conceptual model for understanding the microenvironment of chronic wound infection. *Wound Repair and Regeneration*, 28(5): 593-599.
- Kitagawa, K., Shigemura, K., Yamamichi, F., Osawa, K., Uda, A., Koike, C. and Fujisawa, M. 2019. Bacteremia complicating urinary tract infection by *Pseudomonas aeruginosa*: Mortality risk factors. *International Journal of Urology*, 26(3): 358-362.
- Klausen, M., Aaes-Jørgensen, A., Molin, S. and Tolker-Nielsen, T. 2003. Involvement of bacterial migration in the development of complex multicellular structures in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Molecular Microbiology*, 50(1): 61-68.
- Kollef, M. H., Chastre, J., Fagon, J. Y., François, B., Niederman, M. S., Rello, J. and Rehm, C. 2014. Global prospective epidemiologic and surveillance study of ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Critical Care Medicine*, 42(10): 2178-2187.
- Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R. and Connolly, L. E. 2016. Aminoglycosides: an overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(6): 89-96.

- Kritsotakis, E. I., Kontopidou, F., Astrinaki, E., Roubelaki, M., Ioannidou, E. and Gikas, A. 2017. Prevalence, incidence burden, and clinical impact of healthcare-associated infections and antimicrobial resistance: a national prevalent cohort study in acute care hospitals in Greece. *Infection and Drug Resistance*, 10(8): 317-328.
- Kuang, Z., Hao, Y., Walling, B. E., Jeffries, J. L., Ohman, D. E. and Lau, G. W. 2011. *Pseudomonas aeruginosa* elastase provides an escape from phagocytosis by degrading the pulmonary surfactant protein-A. *PloS One*, 6(11): 27091.
- Lamers, R. P., Cavallari, J. F. and Burrows, L. L. 2013. The efflux inhibitor phenylalanine-arginine beta-naphthylamide (PA $\beta$ N) permeabilizes the outer membrane of gram-negative bacteria. *PloS One*, 8(3): 60666.
- Langan, K. M., Kotsimbos, T. and Peleg, A. Y. 2015. Managing *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infections in cystic fibrosis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 28(6): 547-556.
- Lange, P. 2009. Chronic obstructive pulmonary disease and risk of infection. *Pneumonologia i Alergologia Polska*, 77(3): 284-288.
- Lau, G. W., Hassett, D. J., Ran, H. and Kong, F. 2004. The role of pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Trends in Molecular Medicine*, 10(12): 599-606.
- Lavoie, E. G., Wangdi, T. and Kazmierczak, B. I. 2011. Innate immune responses to *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Microbes and Infection*, 13(15): 1133-1145.
- Lee, B., Schjerling, C. K., Kirkby, N., Hoffmann, N., Borup, R., Molin, S., Høiby, N. and Ciofu, O. 2011. Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates maintain the biofilm formation capacity and the gene expression profiles during the chronic lung infection of CF patients. *Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*, 119(5): 263-274.
- Lehman, D. C. 2014. Biochemical identification of gram-negative bacteria. *Textbook of Diagnostic Microbiology*, 14(5): 182.
- Leroy, O., D'Escrivan, T., Devos, P., Dubreuil, L., Kipnis, E. and Georges, H. 2005. Hospital-acquired pneumonia in critically ill patients: factors associated with episodes due to imipenem-resistant organisms. *Infection*, 33(3): 129-135.

- Li, H., Luo, Y. F., Williams, B. J., Blackwell, T. S. and Xie, C. M. 2012. Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: from antibiotic resistance to novel therapies. *International Journal of Medical Microbiology*, 302(2): 63-68.
- Li, Y., Jin, L. and Chen, T. 2020. The effects of secretory IgA in the mucosal immune system. *BioMed Research International*, 2020(1): 2032057.
- Liao, C., Huang, X., Wang, Q., Yao, D. and Lu, W. 2022. Virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* and antivirulence strategies to combat its drug resistance. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12(5): 926758.
- Lin, C. K. and Kazmierczak, B. I. 2017. Inflammation: A double-edged sword in the response to *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Journal of Innate Immunity*, 9(3): 250-261.
- Loos, A., Weich, N., Woo, J., Lalonde, G., Yee, L., Dummer, W. and Truong, V. L. 2019. 674. Pre-clinical and phase I safety data for anti-*Pseudomonas aeruginosa* human monoclonal antibody AR-105. *Open Forum Infectious Diseases*, 6(2): 307-308.
- Lorusso, A. B., Carrara, J. A., Barroso, C. D. N., Tuon, F. F. and Faoro, H. 2022. Role of efflux pumps on antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24): 15779.
- Lovewell, R. R., Patankar, Y. R. and Berwin, B. 2014. Mechanisms of phagocytosis and host clearance of *Pseudomonas aeruginosa*. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 306(7): 591-603.
- Lu, J., Zhang, C., Leong, H. Y., Show, P. L., Lu, F. and Lu, Z. 2020. Overproduction of lipoxygenase from *Pseudomonas aeruginosa* in *Escherichia coli* by auto-induction expression and its application in triphenylmethane dyes degradation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 129(3): 327-332.
- Luyt, C., Hekimian, G., Koulenti, D. and Chastre, J. 2018. Microbial cause of ICU-acquired pneumonia : hospital-acquired pneumonia versus ventilator-associated pneumonia To cite this version : HAL Id : hal-02305961 Microbial etiology of ICU-acquired pneumonia : HAP vs VAP. *Current Opinion in Critical Care*, 24(5): 332-338.
- Ma, Y. X., Wang, C. Y., Li, Y. Y., Li, J., Wan, Q. Q., Chen, J. H. and Niu, L. N. 2020. Considerations and caveats in combating ESKAPE pathogens against nosocomial infections. *Advanced Science*, 7(1): 1901872.

- MacFaddin, J. F. 2004. Biochemical tests for identification of medical bacteria. CINI, 2(26): 1980.
- Magill, S. S., Edwards, J. R., Bamberg, W., Beldavs, Z. G., Dumyati, G., Kainer, M. A. and Fridkin, S. K. 2014. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *New England Journal of Medicine*, 370(13): 1198-1208.
- Malhotra, S., Hayes, D. and Wozniak, D. J. 2019. Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and regional inflammation in the cystic fibrosis lung. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 18(6): 796-803.
- Malone, M., Bjarnsholt, T., McBain, A. J., James, G. A., Stoodley, P., Leaper, D. and Wolcott, R. D. 2017. The prevalence of biofilms in chronic wounds: a systematic review and meta-analysis of published data. *Journal of Wound Care*, 26(1): 20-25.
- Mann, E. E. and Wozniak, D. J. 2012. *Pseudomonas* biofilm matrix composition and niche biology. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4): 893-916.
- Masi, M., Winterhalter, M. and Pagès, J. M. 2019. Outer membrane porins. *Bacterial Cell Walls and Membranes*, 19(7): 79-123.
- Matsumoto, T., Tateda, K., Furuya, N., Miyazaki, S., Ohno, A., Ishii, Y. and Yamaguchi, K. 1998. Efficacies of alkaline protease, elastase and exotoxin A toxoid vaccines against gut-derived *Pseudomonas aeruginosa* sepsis in mice. *The Journal of Medical Microbiology*, 47(4): 303-308.
- Mauch, R. M., Jensen, P. Ø., Moser, C., Levy, C. E. and Høiby, N. 2018a. Mechanisms of humoral immune response against *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infection in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*, 17(2): 143-152.
- Mauch, R. M., Nørregaard, L. L., Ciofu, O., Levy, C. E. and Høiby, N. 2018b. IgG avidity to *Pseudomonas aeruginosa* over the course of chronic lung biofilm infection in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*, 17(3): 356-359.
- McDermott, H. M. 2016. The identification of the multi-drug resistant organisms, vancomycin resistant enterococci (VRE) and extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing Enterobacteriaceae (ESBL-E), in the ICU: Examining the interplay between patient colonisation and environmental contamination. PhD. Thesis, Royal College of Surgeons, 154 page, Dublin.
- McHugh, B. J., Wang, R., Li, H. N., Beaumont, P. E., Kells, R., Stevens, H. and Davidson, D. J. 2019. Cathelicidin is a “fire alarm”, generating protective NLRP3-dependent

- airway epithelial cell inflammatory responses during infection with *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Pathogens*, 15(4): 1007694.
- Micek, S. T., Wunderink, R. G., Kollef, M. H., Chen, C., Rello, J., Chastre, J. and Menon, V. 2015. An international multicenter retrospective study of *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial pneumonia: impact of multidrug resistance. *Critical Care*, 19(7): 1-8.
- Michalska, M. and Wolf, P. 2015. *Pseudomonas* Exotoxin A: Optimized by evolution for effective killing. *Frontiers in Microbiology*, 6(8): 963.
- Migiyama, Y., Yanagihara, K., Kaku, N., Harada, Y., Yamada, K., Nagaoka, K. and Kohno, S. 2016. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia among immunocompetent and immunocompromised patients: relation to initial antibiotic therapy and survival. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 69(2): 91-96.
- Mishra, M., Ressler, A., Schlesinger, L. S. and Wozniak, D. J. 2015. Identification of OprF as a complement component C3 binding acceptor molecule on the surface of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and Immunity*, 83(8): 3006-3014.
- Mitov, I., Strateva, T. and Markova, B. 2010. Prevalence of virulence genes among bulgarian nosocomial and cystic fibrosis isolates of *pseudomonas aeruginosa*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(3): 588-595.
- Moazami, G. S. and Eftekhari, F. 2013. Assessment of carbapenem susceptibility and multidrug-resistance in *Pseudomonas aeruginosa* burn isolates in Tehran. *SID*, 13(3): 98548.
- Mogayzel, P. J., Naureckas, E. T., Robinson, K. A., Brady, C., Guill, M., Lahiri, T. and Marshall, B. C. 2014. Cystic Fibrosis Foundation pulmonary guideline. pharmacologic approaches to prevention and eradication of initial *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Annals of the American Thoracic Society*, 11(10): 1640-1650.
- Monturiol-Gross, L., Villalta-Romero, F., Flores-Díaz, M. and Alape-Girón, A. 2021. Bacterial phospholipases C with dual activity: Phosphatidylcholinesterase and sphingomyelinase. *FEBS Open Bio*, 11(12): 3262-3275.
- Moore, N. M. and Flaws, M. L. 2011. Antimicrobial resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Laboratory Science*, 24(1): 47-51.

- Moser, C., Jensen, P. Ø., Thomsen, K., Kolpen, M., Rybtke, M., Lauland, A. S. and Tolker-Nielsen, T. 2021. Immune responses to *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections. *Frontiers in Immunology*, 12(1): 625597.
- Moss, W. J., Beers, M. C., Johnson, E., Nichols, D. G., Perl, T. M., Dick, J. D., Veltri, M. A. and Willoughby, R. E. 2002. Pilot study of antibiotic cycling in a pediatric intensive care unit. *Critical Care Medicine*, 30(8): 1877-1882.
- Moyá, B., Beceiro, A., Cabot, G., Juan, C., Zamorano, L., Alberti, S. and Oliver, A. 2012. Pan- $\beta$ -lactam resistance development in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains: molecular mechanisms, penicillin-binding protein profiles, and binding affinities. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(9): 4771-4778.
- Munita, J. M. and Arias, C. A. 2016. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2): 16-25.
- Muntaka, S., Almuhan, Y., Jackson, D., Singh, S., Afryie-Asante, A., Cámara, M. and Martínez-Pomares, L. 2019. Gamma interferon and interleukin-17A differentially influence the response of human macrophages and neutrophils to *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Infection and Immunity*, 87(2): 1110-1128.
- Mutuku, C., Gazdag, Z. and Melegh, S. 2022. Occurrence of antibiotics and bacterial resistance genes in wastewater: resistance mechanisms and antimicrobial resistance control approaches. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(9): 152.
- Mühlen, S. and Dersch, P. 2016. Anti-virulence strategies to target bacterial infections. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 398(7): 147-183.
- Nakamura, S., Iwanaga, N., Seki, M., Fukudome, K., Oshima, K., Miyazaki, T. and Kohno, S. 2016. Toll-like receptor 4 agonistic antibody promotes host defense against chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in mice. *Infection and Immunity*, 84(7): 1986-1993.
- Nakasone, I., Kinjo, T., Yamane, N., Kisanuki, K. and Shiohira, C. M. 2007. Laboratory-based evaluation of the colorimetric VITEK-2 Compact system for species identification and of the Advanced Expert System for detection of antimicrobial resistances: VITEK-2 Compact system identification and antimicrobial susceptibility testing. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 58(2): 191-198.

- Naqvi, Z. A., Hashmi, K., Rizwan, Q. M. and Kharal, S. A. 2005. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: a nosocomial infection threat in burn patients. *Pakistan Journal of Pharmacology*, 22(2): 9-15.
- Nikbin, V. S., Aslani, M. M., Sharafi, Z., Hashemipour, M., Shahcheraghi, F. and Ebrahimipour, G. H. 2012. Molecular identification and detection of virulence genes among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different infectious origins. *Iranian Journal of Microbiology*, 4(3): 118-123.
- Nikokar, I., Tishayar, A., Flakiyan, Z., Alijani, K., Rehana-Banisaeed, S., Hossinpour, M. and Araghian, A. 2013. Antibiotic resistance and frequency of class 1 integrons among *Pseudomonas aeruginosa*, isolated from burn patients in Guilan, Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 5(1), 36-41.
- Ninama, G. L., Mistry, K., Parmar, R., Patel, K. and Vegad, M. M. 2012. Antibiotic resistance pattern in *Pseudomonas aeruginosa* species isolated at a tertiary care hospital, Ahmadabad. *National Journal of Medical Research*, 2(2): 156-159.
- Norbury, W., Herndon, D. N., Tanksley, J., Jeschke, M. G. and Finnerty, C. C. 2016. Infection in burns. *Surgical Infections*, 17(2): 250-255.
- O'Callaghan, R., Caballero, A., Tang, A. and Bierdeman, M. 2019. *Pseudomonas aeruginosa* keratitis: Protease IV and PASP as corneal virulence mediators. *Microorganisms*, 7(9): 281.
- Okon, K., Agukwe, P., Oladosu, W., Balogun, S. and Uba, A. 2009. Antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens in a tertiary hospital in Northeastern Nigeria. *Journal of Microbiology*, 8(2): 5-7.
- Olsen, I. 2015. Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 34(5): 877-886.
- Omar, T., Ziltener, P., Chamberlain, E., Cheng, Z. and Johnston, B. 2020. Mice lacking  $\gamma\delta$  T cells exhibit impaired clearance of *Pseudomonas aeruginosa* lung infection and excessive production of inflammatory cytokines. *Infection and Immunity*, 88(6): 1109-1128.
- Owusu-Anim, D. and Kwon, D. H. 2012. Differential role of two-component regulatory systems (phoPQ and pmrAB) in polymyxin B susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*. *Advances in Microbiology*, 2(1): 107-134.

- Ozer, E., Yaniv, K., Chetrit, E., Boyarski, A., Meijler, M. M., Berkovich, R. and Alfonta, L. 2021. An inside look at a biofilm: *Pseudomonas aeruginosa* flagella biotracking. *Science Advances*, 7(24): 8581.
- Pachori, P., Gothwal, R. and Gandhi, P. 2019. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes and Diseases*, 6(2): 109-119.
- Pan, S. Y., Shih, Y. L., Huang, H. H., Li, L. H., Lin, Y. T. and Yang, T. C. 2022. 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*, 55(2): 273-281.
- Pang, Z., Junkins, R. D., Raudonis, R., MacNeil, A. J., McCormick, C., Cheng, Z. and Lin, T. J. 2018. Regulator of calcineurin 1 differentially regulates TLR-dependent MyD88 and TRIF signaling pathways. *PloS One*, 13(5): 197491.
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J. and Cheng, Z. 2019. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*, 37(1): 177-192.
- Pathmanathan, S. G., Samat, N. A. and Mohamed, R. 2009. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from a Malaysian Hospital. *The Malaysian Journal of Medical Sciences*, 16(2): 27-32.
- Pedersen, S. S., Høiby, N., Espersen, F. and Koch, C. 1992. Role of alginate in infection with mucoid *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Thorax*, 47(1): 6-13.
- Pencle, F., Mowery, M. L. and Zulfiqar, H. 2017. First Degree Burn. *EuroPMC*. 8(8): 2023.
- Percival, S. L., McCarty, S. M. and Lipsky, B. 2015. Biofilms and wounds: An overview of the evidence. *Advances in Wound Care*, 4(7): 373-381.
- Perraud, Q., Kuhn, L., Fritsch, S., Graulier, G., Gasser, V., Normant, V. and Schalk, I. J. 2022. Opportunistic use of catecholamine neurotransmitters as siderophores to access iron by *Pseudomonas aeruginosa*. *Environmental Microbiology*, 24(2): 878-893.
- Pessoa, R. B. G., De Oliveira, W. F., Marques, D. S. C., Dos Santos Correia, M. T., De Carvalho, E. V. M. and Coelho, L. C. B. B. 2019. The genus *Aeromonas*: A general approach. *Microbial Pathogenesis*, 130(9): 81-94.

- Pier, G. B. 2007. *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide: a major virulence factor, initiator of inflammation and target for effective immunity. *International Journal of Medical Microbiology*, 297(5): 277-295.
- Poirel, L., Lambert, T., Türkoglu, S., Ronco, E., Gaillard, J. and Nordmann, P. 2001. Characterization of Class 1 integrons from *Pseudomonas aeruginosa* that contain the bla(VIM-2) carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase gene and of two novel aminoglycoside resistance gene cassettes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(2): 546-552.
- Poole, K. 2005. Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(2): 479-487.
- Pournajaf, A., Razavi, S., Irajian, G., Ardebili, A., Erfani, Y., Solgi, S. and Rajabnia, R. 2018. Integron types, antimicrobial resistance genes, virulence gene profile, alginate production and biofilm formation in Iranian cystic fibrosis *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Le Infezioni in Medicina*, 26(3): 226-36.
- Proctor, L. L., Ward, W. L., Roggy, C. S., Koontz, A. G., Clark, K. M., Quinn, A. P. and Brooks, B. D. 2021. Potential therapeutic targets for combination antibody therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Antibiotics*, 10(12): 1530.
- Qin, S., Xiao, W., Zhou, C., Pu, Q., Deng, X., Lan, L. and Wu, M. 2022. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1): 199.
- Ra'oof, W. M. 2011. Distribution of algD, lasB, pilB and nan1 genes among MDR clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in respect to site of infection. *Tikrit Medical Journal*, 17(2): 148-160.
- Raineri, E., Porcella, L., Acquarolo, A., Crema, L., Albertario, F. and Candiani, A. 2014. Ventilator-associated Pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa* in Intensive Care Unit: Epidemiology and risk factors. *Journal of Medical Microbiology and Diagnosis*, 3(3): 9-19.
- Ramirez, M. S. and Tolmasky, M. E. 2010. Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates*, 13(6): 151-171.

- Rampioni, G., Pillai, C. R., Longo, F., Bondi, R., Baldelli, V., Messina, M. and Leoni, L. 2017. Effect of efflux pump inhibition on *Pseudomonas aeruginosa* transcriptome and virulence. *Scientific Reports*, 7(1): 11392.
- Ranjan, K. P., Ranjan, N., Bansal, S. K. and Arora, D. R. 2010. Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* in post-operative wound infection in a referral hospital in Haryana, India. *Journal of Laboratory Physicians*, 2(2): 74-77.
- Rasamiravaka, T., Labtani, Q., Duez, P. and El Jaziri, M. 2015. The formation of biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*: a review of the natural and synthetic compounds interfering with control mechanisms. *BioMed Research International*, 20(15): 759348.
- Rawat, D. and Nair, D. 2010. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in gram negative bacteria. *Journal of Global Infectious Diseases*, 2(3): 263-274.
- Rezzoagli, C., Archetti, M., Mignot, I., Baumgartner, M. and Kümmerli, R. 2020. Combining antibiotics with antivirulence compounds can have synergistic effects and reverse selection for antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Biology*, 18(8): 3000805.
- Ruangpan, L. and Tendencia, E. 2004. Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment. Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, 55 page, Bangkok.
- Sabnis, A., Hagart, K. L., Klöckner, A., Becce, M., Evans, L. E., Furniss, R. C. D. and Edwards, A. M. 2021. Colistin kills bacteria by targeting lipopolysaccharide in the cytoplasmic membrane. *Elife*, 10(3): 65836.
- Saiman, L., Siegel, J. D., LiPuma, J. J., Brown, R. F., Bryson, E. A., Chambers, M. J. and Weber, D. J. 2014. Infection prevention and control guideline for cystic fibrosis: 2013 update. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 35(1): 1-67.
- Salsgiver, E. L., Fink, A. K., Knapp, E. A., LiPuma, J. J., Olivier, K. N., Marshall, B. C. and Saiman, L. 2016. Changing epidemiology of the respiratory bacteriology of patients with cystic fibrosis. *Chest*, 149(2): 390-400.
- Sanders, D. B. and Goss, C. H. 2013. Pulmonary exacerbations as indicators of progression of lung disease in young children with CF. *Thorax*, 68(7): 608-609.

- Sandoval-Motta, S. and Aldana, M. 2016. Adaptive resistance to antibiotics in bacteria: a systems biology perspective. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Systems Biology and Medicine*, 8(3): 253-267.
- Sass, G., Miller Conrad, L. C., Nguyen, T. T. H. and Stevens, D. A. 2020. 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.
- Sato, H. and Frank, D. W. 2011. Multi-functional characteristics of the *Pseudomonas aeruginosa* type III needle-tip protein, PcrV; comparison to orthologs in other Gram-negative bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 2(6): 142.
- Scarpellini, M., Franzetti, L. and Galli, A. 2004. Development of PCR assay to identify *Pseudomonas fluorescens* and its biotype. *FEMS Microbiology Letters*, 236(2): 257-260.
- Schultz, M. J., Rijneveld, A. W., Florquin, S., Edwards, C. K., Dinarello, C. A. and Van Der Poll, T. 2002. Role of interleukin-1 in the pulmonary immune response during *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 282(2): 285-290.
- Seibold, M. A. 2018. Interleukin-13 stimulation reveals the cellular and functional plasticity of the airway epithelium. *Annals of the American Thoracic Society*, 15(2): 98-102.
- Sen, C. K. 2021. Human wound and its burden: Updated 2020 compendium of estimates. *Advances in Wound Care*, 10(5): 281-292.
- Serra, R., Grande, R., Butrico, L., Rossi, A., Settimio, U. F., Caroleo, B. and De Franciscis, S. 2015. Chronic wound infections: the role of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 13(5): 605-613.
- Shoemark, A., Ozerovitch, L. and Wilson, R. 2007. Aetiology in adult patients with bronchiectasis. *Respiratory Medicine*, 101(6): 1163-1170.
- Skariyachan, S., Sridhar, V. S., Packirisamy, S., Kumargowda, S. T. and Challapilli, S. B. 2018. Recent perspectives on the molecular basis of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and approaches for treatment and biofilm dispersal. *Folia Microbiologica*, 63(4): 413-432.

- Skopelja-Gardner, S., Theprungsirikul, J., Lewis, K. A., Hammond, J. H., Carlson, K. M., Hazlett, H. F. and Rigby, W. F. 2019. Regulation of *Pseudomonas aeruginosa*-mediated neutrophil extracellular traps. *Frontiers in Immunology*, 10(7): 1670.
- Sousa, A. M. and Pereira, M. O. 2014. *Pseudomonas aeruginosa* diversification during infection development in cystic fibrosis lungs: A review. *Pathogens*, 3(3): 680-703.
- Spagnolo, A. M., Sartini, M. and Cristina, M. L. 2021. *Pseudomonas aeruginosa* in the healthcare facility setting. *Reviews in Medical Microbiology*, 32(3): 169-175.
- Spear, M. 2013. Acute or chronic?. What's the difference?. *Plastic Surgical Nursing*, 33(2): 98-100.
- Stepanovic, S., Vukovic, D., Dakic, I., Savic, B. and Svabic-Vlahovic, M. 2000. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*, 40(2): 175-179.
- Strbo, N., Yin, N. and Stojadinovic, O. 2014. Innate and adaptive immune responses in wound epithelialization. *Advances in Wound Care*, 3(7): 492-501.
- Subedi, D., Vijay, A. K. and Willcox, M. 2018. Overview of mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: an ocular perspective. *Clinical and Experimental Optometry*, 101(2): 162-171.
- Sugawara, E., Nagano, K. and Nikaido, H. 2012. Alternative folding pathways of the major porin OprF of *Pseudomonas aeruginosa*. *The FEBS Journal*, 279(6): 910-918.
- Sun, J., Deng, Z. and Yan, A. 2014. Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 453(2): 254-267.
- Talà, L., Fineberg, A., Kukura, P. and Persat, A. 2019. *Pseudomonas aeruginosa* orchestrates twitching motility by sequential control of type IV pili movements. *Nature Microbiology*, 4(5): 774-780.
- Tawfeeq, H. K., Hamid, M. and Fahad Al-Mathkhury, H. J. 2021. The Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* among Baghdad Hospitalised Patients. *Medico-Legal Update*, 21(2): 98-109.
- Taylor, P. K., Yeung, A. T. Y. and Hancock, R. E. W. 2014. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: towards the development of novel anti-biofilm therapies. *Journal of Biotechnology*, 191(9): 121-130.

- Thaden, J. T., Park, L. P., Maskarinec, S. A., Ruffin, F., Fowler, V. G. and Van Duin, D. 2017. Results from a 13-year prospective cohort study show increased mortality associated with bloodstream infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* compared to other bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(6): 10-1128.
- Thi, M. T. T., Wibowo, D. and Rehm, B. H. A. 2020. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22): 8671.
- Tielen, P., Kuhn, H., Rosenau, F., Jaeger, K. E., Flemming, H. C. and Wingender, J. 2013. Interaction between extracellular lipase LipA and the polysaccharide alginate of *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiology*, 13(8): 1-12.
- Tofas, P., Samarkos, M., Piperaki, E. T., Kosmidis, C., Triantafyllou, I. D., Kotsopoulou, M. and Daikos, G. L. 2017. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in patients with hematologic malignancies: risk factors, treatment and outcome. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 88(4): 335-341.
- Turner, K. H., Everett, J., Trivedi, U., Rumbaugh, K. P. and Whiteley, M. 2014. Requirements for *Pseudomonas aeruginosa* acute burn and chronic surgical wound infection. *PLoS Genetics*, 10(7): 1004518.
- Vahdani, M., Azimi, L., Asghari, B., Bazmi, F. and Rastegar Lari, A. 2012. Phenotypic screening of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and metallo- $\beta$ -lactamase in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from infected burns. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 25(2): 78-81.
- Van Den Bergh, B., Fauvart, M. and Michiels, J. 2017. Formation, physiology, ecology, evolution and clinical importance of bacterial persisters. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(3): 219-251.
- Vasil, M. L., Graham, L. M., Ostroff, R. M., Shortridge, V. D. and Vasil, A. I. 1991. Phospholipase C: Molecular biology and contribution to the pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics and Chemotherapy*, 44(7): 34-47.
- Viegas, A., Dollinger, P., Verma, N., Kubiak, J., Viennet, T., Seidel, C. A. and Jaeger, K. E. 2020. Structural and dynamic insights revealing how lipase binding domain MD1 of *Pseudomonas aeruginosa* foldase affects lipase activation. *Scientific Reports*, 10(1): 3578.

- Vincent, J. L., Sakr, Y., Singer, M., Martin-Loeches, I., Machado, F. R., Marshall, J. C. and Epic III Investigators. 2020. Prevalence and outcomes of infection among patients in intensive care units in 2017. *JAMA*, 323(15): 1478-1487.
- Von Wintersdorff, C. J., Penders, J., Van Niekerk, J. M., Mills, N. D., Majumder, S., Van Alphen, L. B. and Wolffs, P. F. 2016. Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer. *Frontiers in Microbiology*, 7(6): 173.
- Walters, M. S., Grass, J. E., Bulens, S. N., Hancock, E. B., Phipps, E. C., Muleta, D. and Kallen, A. 2019. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* at US emerging infections program sites, 2015. *Emerging Infectious Diseases*, 25(7): 1281.
- Wang, X. and Wood, T. K. 2011. Toxin-antitoxin systems influence biofilm and persister cell formation and the general stress response. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(16): 5577-5583.
- Wang, Y., Beekman, J., Hew, J., Jackson, S., Issler-Fisher, A. C., Parungao, R. and Maitz, P. K. 2018. Burn injury: challenges and advances in burn wound healing, infection, pain and scarring. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 123(6): 3-17.
- Weiner-Lastinger, L. M., Abner, S., Edwards, J. R., Kallen, A. J., Karlsson, M., Magill, S. S. and Dudeck, M. A. 2020. Antimicrobial-resistant pathogens associated with adult healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network, 2015–2017. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 41(1): 1-18.
- Werner, M. U., Lassen, B., Pedersen, J. L. and Kehlet, H. 2002. Local cooling does not prevent hyperalgesia following burn injury in humans. *Pain*, 98(3): 297-303.
- Whitney, J. C., Whitfield, G. B., Marmont, L. S., Yip, P., Neculai, A. M., Lobsanov, Y. D. and Howell, P. L. 2015. Dimeric c-di-GMP is required for post-translational regulation of alginate production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biological Chemistry*, 290(20): 12451-12462.
- Williams, B. J., Dehnbostel, J. and Blackwell, T. S. 2010. *Pseudomonas aeruginosa*: host defence in lung diseases. *Respirology*, 15(7): 1037-1056.
- Wolska, K. and Szweda, P. 2009. Genetic features of clinical *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Polish Journal of Microbiology*, 58(3): 255-260.

- Wolter, D. J. and Lister, P. D. 2013. Mechanisms of  $\beta$ -lactam resistance among *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Pharmaceutical Design*, 19(2): 209-222.
- Wong, P. H., Von Krosigk, M., Roscoe, D. L., Lau, T. T., Yousefi, M. and Bowie, W. R. 2014. Antimicrobial co-resistance patterns of gram-negative bacilli isolated from bloodstream infections: A longitudinal epidemiological study from 2002–2011. *BMC Infectious Diseases*, 14(1): 1-10.
- Woo, T. E., Lim, R., Surette, M. G., Waddell, B., Bowron, J. C., Somayaji, R. and Parkins, M. D. 2018. Epidemiology and natural history of *Pseudomonas aeruginosa* airway infections in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *ERJ Open Research*, 4(2): 1-9.
- Wu, M. and Li, X. 2015. *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. In *Molecular medical microbiology*. Elsevier, 4(8): 1547-1564.
- Wu, W., Huang, J., Duan, B., Traficante, D. C., Hong, H., Risech, M. and Priebe, G. P. 2012. Th17-stimulating protein vaccines confer protection against *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 186(5): 420-427.
- Yadav, S., Yadav, S., Kaushik, R., Saxena, A. K. and Arora, D. K. 2014. Genetic and functional diversity of fluorescent *Pseudomonas* from rhizospheric soils of wheat crop. *Journal of Basic Microbiology*, 54(5): 425-437.
- Yaeger, L. N., Coles, V. E., Chan, D. C. K. and Burrows, L. L. 2021. How to kill *Pseudomonas*-emerging therapies for a challenging pathogen. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1496(1): 59-81.
- Yang, J. J., Tsuei, K. S. C. and Shen, E. P. 2022. The role of Type III secretion system in the pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* microbial keratitis. *Tzu Chi Medical Journal*, 34(1): 8-14.
- Yu, H., He, X., Xie, W., Xiong, J., Sheng, H., Guo, S. and Zhang, K. 2014. Elastase LasB of *Pseudomonas aeruginosa* promotes biofilm formation partly through rhamnolipid-mediated regulation. *Canadian Journal of Microbiology*, 60(4): 227-235.
- Zgurskaya, H. I., López, C. A. and Gnanakaran, S. 2015. Permeability barrier of gram-negative cell envelopes and approaches to bypass it. *ACS Infectious Diseases*, 1(11): 512-522.

- Zhang, Z. and Zhang, X. 2021. Evolution of Subfamily I.1 Lipases in *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Microbiology*, 78(9): 3494-3504.
- Zhao, F., Wang, Q., Zhang, Y. and Lei, L. 2021. Anaerobic biosynthesis of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*: Performance, mechanism and its application potential for enhanced oil recovery. *Microbial Cell Factories*, 20(1): 103.
- Zhou, Y., Yu, H., Guo, Q., Xu, X., Ye, X., Wu, S. and Wang, M. 2010. Distribution of 16S rRNA methylases among different species of Gram-negative bacilli with high-level resistance to aminoglycosides. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 29(2): 1349-1353.
- Zilberberg, M. D., Nathanson, B. H., Sulham, K., Fan, W. and Shorr, A. F. 2016. Multidrug resistance, inappropriate empiric therapy, and hospital mortality in *Acinetobacter baumannii* pneumonia and sepsis. *Critical Care Medicine*, 20(1): 221.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Mohammed Abdaljabbar Ahmed AHMED

### Eğitim

Doktora	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2022-2024
Yüksek Lisans	Bağdat Üniversitesi Fen Fakültesi Mikrobiyoloji	2018-2020
Lisans	Bağdat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2014-2018