



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KLİNİK *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*
İZOLATLARININ ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIĞI VE
MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ömür Mustafa PARKAN

KAYSERİ 2016



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KLİNİK *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*
İZOLATLARININ ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIĞI VE
MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ömür Mustafa PARKAN

Danışman

Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TTU-2015-5034 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

KAYSERİ 2016

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanmasında, yürütülmesinde ve sonuçlanmasında çok büyük desteğini gördüğüm tez danışmanım Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Hüseyin Kılıç'a ve uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, eğitimimde çok büyük emeği geçen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Asistanlık sürem boyunca keyifle çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve tüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

TTU-2015-5034 kodlu bu tez projesini maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim.

Üzerimde sonsuz emeği olan, her an yanımda olup anlayışını ve desteğini hiç esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3
2.1.1. Tarihçe ve sınıflandırma	3
2.1.2. Morfolojik özellikler	4
2.1.3. Üreme ve kültür özellikleri	4
2.1.4. Biyokimyasal özellikleri	4
2.1.5. Virülans faktörleri ve patogeneze	5
2.2. <i>S. maltophilia</i> Enfeksiyonları	8
2.2.1. Epidemiyoloji	8
2.2.2. Risk faktörleri ve bulaş	8
2.2.3. Klinik tablolar	10
2.2.3.1. Solunum yolu enfeksiyonları	10
2.2.3.2. Kan dolaşımı enfeksiyonları	11
2.2.3.3. Endokardit	12
2.2.3.4. Üriner sistem enfeksiyonları	12
2.2.3.5. Santral sinir sistemi enfeksiyonları	13
2.2.3.6. Oftalmolojik enfeksiyonlar	13
2.2.3.7. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları	13
2.2.3.8. Kemik ve eklem enfeksiyonları	13
2.2.3.9. Gastrointestinal ve abdominal enfeksiyonlar	14
2.2.4. Laboratuvar tanısı	14
2.2.5. Tedavi	15
2.2.5.1. Trimetoprim-sülfametoksazol	16
2.2.5.2. Beta-laktamlar	17

2.2.5.3. Florokinolonlar.....	17
2.2.5.4. Tetrasiklinler ve glisilsiklinler	17
2.2.5.5. Polimiksinler	18
2.2.5.6. Kloramfenikol	19
2.2.6. Korunma.....	19
2.3. <i>S. maltophilia</i> 'nın Antibiyotiklere Direnci	19
2.3.1. Enzimatik mekanizmalar.....	20
2.3.2. Efluks pompaları	20
2.3.3. Hedef bölge modifikasyonları.....	22
2.3.4. Dış membran değişiklikleri.....	22
2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	22
2.5. Moleküler Epidemiyolojik Yöntemler	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Bakterilerin İzolasyonu ve Tanımlanması	28
3.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	29
3.2.1. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi.....	29
3.2.1.1. MHSB'nin hazırlanması	29
3.2.1.2. Antibiyotik stok solüsyonlarının hazırlanması.....	29
3.2.1.3. Bakteri inokulumu.....	30
3.2.1.4. Testin yapılışı.....	30
3.2.1.5. Değerlendirme ve yorum.....	31
3.2.2. Etest (gradient difüzyon) yöntemi.....	31
3.2.2.1. MHA'nın hazırlanması	31
3.2.2.2. Bakteri inokulumu.....	32
3.2.2.3. Testin yapılışı.....	32
3.2.2.4. Değerlendirme ve yorum.....	32
3.3. İntegron ilişkili <i>intI</i> ve <i>sul</i> Genlerinin Varlığının Araştırılması	33
3.3.1. <i>S. maltophilia</i> izolatlarından DNA ekstraksiyonu	33
3.3.2. Çalışmada kullanılan primer dizileri.....	34
3.3.3. PCR karışımı ve amplifikasyon koşulları	34
3.3.3.1. İntegron ilişkili <i>intI1</i> , <i>intI2</i> ve <i>intI3</i> genlerinin araştırılması.....	35
3.3.3.2. <i>sul1</i> ve <i>sul2</i> genlerinin araştırılması.....	36
3.3.3.3. <i>sul3</i> geninin araştırılması	37
3.3.4. Agaroz jel elektroforezi.....	38
3.3.5. Değerlendirme ve yorum	38
3.4. PCR İle Çoğaltılan Gen Bölgelerinin Dizi Analizi İle Doğrulanması	38

3.4.1. PCR ürünlerinin saflaştırılması	39
3.4.2. Döngüsel Dizileme Reaksiyonu	39
3.4.3. Döngüsel dizileme reaksiyonu sonrası saflaştırma	40
3.4.4. Otomatik dizi analizi cihazına yükleme	40
3.4.5. Değerlendirme ve yorum	40
3.5. <i>S. maltophilia</i> İzolatlarının PFGE Yöntemi İle Genotiplendirilmesi.....	40
3.5.1. Bakteri kalıplarının hazırlanması	41
3.5.2. Kalıplardaki hücrelerin lizisi ve yıkama	41
3.5.3. Restriksiyon enzimi ile kesim	42
3.5.4. Agaroz jel elektroforezi.....	42
3.5.5. Değerlendirme ve yorum	43
3.6. İstatistiksel Analiz	44
4. BULGULAR	45
4.1. <i>S. maltophilia</i> İzolatları	45
4.2. Antimikrobiyal Duyarlılık Profilleri	47
4.3. İntegron ilişkili <i>intI1</i> , <i>intI2</i> ve <i>intI3</i> Genlerinin Varlığı	50
4.4. <i>sul1</i> , <i>sul2</i> ve <i>sul3</i> Direnç Genlerinin Varlığı.....	51
4.5. PCR Ürünlerinin Dizi Analizi.....	51
4.6. PFGE İle Genotiplendirme.....	52
4.7. Çevre Kültürleri	56
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇLAR	68
7. KAYNAKLAR	70
TEZ ONAY SAYFASI.....	83

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1.	<i>S. maltophilia</i> 'nın biyokimyasal özellikleri	5
Tablo 2.2.	<i>S. maltophilia</i> 'nın kabul edilen bazı virülans faktörleri	6
Tablo 2.3.	<i>S. maltophilia</i> enfeksiyonları için önerilen tedavi seçenekleri	16
Tablo 2.4.	<i>S. maltophilia</i> 'da doğal ve kazanılmış dirençte rol oynayan eflüks pompaları	21
Tablo 2.5.	<i>S. maltophilia</i> 'da doğal antibiyotik direnci	24
Tablo 3.1.	Çalışmada kullanılan antibiyotik tozları ve potensleri	29
Tablo 3.2.	Antibiyotik tozlarının çözücü ve sulandırıcıları	30
Tablo 3.3.	Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin <i>S. maltophilia</i> için MİK sınır değerleri	33
Tablo 3.4.	Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin standart kontrol suşları için MİK aralıkları	33
Tablo 3.5.	PCR'da kullanılan primer dizileri	34
Tablo 3.6.	İntegron ilişkili <i>intI</i> genlerinin saptanması için kullanılan PCR karışımı	35
Tablo 3.7.	İntegron ilişkili integraz genlerinin amplifikasyonu için uygulanan PCR protokolü	35
Tablo 3.8.	<i>sul1</i> ve <i>sul2</i> direnç genlerinin saptanmasında kullanılan PCR karışımı	36
Tablo 3.9.	<i>sul1</i> ve <i>sul2</i> gen bölgelerinin amplifikasyonu için uygulanan PCR protokolü	36
Tablo 3.10.	<i>sul3</i> direnç geninin saptanmasında kullanılan PCR karışımı	37
Tablo 3.11.	<i>sul3</i> gen bölgesinin amplifikasyonu için uygulanan PCR protokolü	37
Tablo 3.12.	Döngüsel dizilemede kullanılan reaktifler ve hacimleri	39
Tablo 3.13.	Döngüsel dizileme reaksiyonunda uygulanan PCR protokolü	39
Tablo 3.14.	PFGE analizi için CHEF DRII sisteminde uygulanan elektroforez koşulları	43
Tablo 4.1.	<i>S. maltophilia</i> izole edilen hastaların kliniklere göre dağılımı	46
Tablo 4.2.	<i>S. maltophilia</i> izolatlarında test edilen antibiyotiklerin MİK değerleri	48
Tablo 4.3.	<i>S. maltophilia</i> izolatlarının test edilen antibiyotiklere duyarlılık durumu	50
Tablo 4.4.	İzolatların integron varlığına göre antibiyotik duyarlılık profili	50

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3.1.	Sıvı mikrodilüsyon testi.....	31
Şekil 3.2.	Etest yöntemi	33
Şekil 4.1.	<i>S. maltophilia</i> izolatlarının klinik örneklerle göre dağılımı	47
Şekil 4.2.	PCR ile pozitif bant saptanan izolatlar	51
Şekil 4.3.	<i>S. maltophilia</i> izolatlarına ait dendrogram	53

KISALTMALAR

ABC	: ATP binding cassette
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AIDS	: Acquired immune deficiency syndrome
AP-PCR	: Arbitrarily primed polymerase chain reaction
ATP	: Adenozin trifosfat
BAL	: Bronkoalveoler lavaj
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CFU	: Colony-forming unit
dH₂O	: Deiyonize su
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNaz	: Deoksiribonükleaz
DSF	: Dağılabilir (diffusible) sinyal faktör
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EMB	: Eosin methylene blue
ERIC	: Enterobacterial repetitive intergenic consensus
ETA	: Endotrakeal aspirat
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
GNSA	: Gram negatif selektif agar
GSBL	: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
HIV	: Human immunodeficiency virus
HST	: Hücre süspansiyon tamponu
IL-8	: İnterlökin-8
ISCR	: Insertion sequence common region
KF	: Kistik fibrozis
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LPS	: Lipopolisakkarid
MFS	: Major facilitator superfamily
MHA	: Mueller-Hinton agar
MHSB	: Mueller-Hinton sıvı besiyeri

MİK	: Minimal inhibitör konsantrasyon
MLST	: Multilocus sequence typing
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
ONPG	: <i>o</i> -nitrofenil- β -D-galaktopiranozid
PABA	: <i>p</i> -aminobenzoik asit
PBP	: Penisilin bağlayıcı proteinler
PCR	: Polymerase chain reaction
PFGE	: Pulsed-field gel electrophoresis
QS	: Quorum sensing
RAPD	: Randomly amplified polymorphic DNA
REP	: Repetitive extragenic palindromic
rep-PCR	: Repetitive-sequence PCR
RND	: Resistance-nodulation-cell-division
rRNA	: Ribozomal ribonükleik asit
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
TBE	: Tris-borik asit-EDTA
TE	: Tris-EDTA
THSK	: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
TMP/SMX	: Trimetoprim-sülfametoksazol
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü α
UPGMA	: Unweighted pair group method with mathematical averaging
VIA	: Vankomisin-imipenem-amfoterisin B
YBÜ	: Yoğun bakım ünitesi

KLİNİK *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* İZOLATLARININ ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIĞI VE MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİSİ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, klinik *Stenotrophomonas maltophilia* izolatlarının tedavide sık kullanılan antimikrobiyal ajanlara duyarlılık durumunun belirlenmesi, farklı sınıflardaki integronların ve sülfonamid direncinden sorumlu *sul* genlerinin varlığının araştırılması ve izolatlar arasındaki klonal ilişki belirlenerek moleküler epidemiyolojisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Kasım 2013-Mart 2015 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi kliniklerinde yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen *S. maltophilia* izolatları çalışmaya dahil edildi. Bakteri identifikasyonu konvansiyonel yöntemler ve Phoenix ID (Becton Dickinson, ABD) otomatize sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. İzolatların trimetoprim-sülfametoksazol (TMP/SMX) için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri Etest (bioMérieux, Fransa) yöntemi ile; seftazidim ve levofloksasin için MİK değerleri ise sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi. Tüm izolatlar integron ilişkili integrin genleri olan *intI1*, *intI2*, *intI3* ile *sul1*, *sul2*, *sul3* genleri açısından polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile tarandı. İzolatlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesinde pulsed field jel elektroforezi (PFGE) yöntemi kullanıldı.

Bulgular: Çalışma kapsamında değerlendirmeye alınan 99 klinik *S. maltophilia* izolatı başlıca yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalardan (%47.5) ve genellikle solunum yolu (%46.5) ve kan (%28.3) örneklerinden izole edilmiştir. İzolatların TMP/SMX, levofloksasin ve seftazidime duyarlılık oranları sırasıyla %90.9, %91.9 ve %53.5 olarak bulunmuştur. TMP/SMX'e dirençli izolatların tamamında *intI1* ve *sul1* gen bölgeleri için PCR sonucu pozitif bulunmuştur. Hiçbir izolatta PCR ile *intI2*, *intI3*, *sul2* ve *sul3* genine rastlanmamıştır. PFGE analizine göre izolatların 75'i sporadik; 24'ü klonal olarak ilişkili (benzerlik $\geq$ %90) bulunmuştur. Klonal olarak ilişkili izolatlar, her biri 2-7 adet izolat içeren yedi farklı klonda toplanmıştır.

Sonuç: Nozokomiyal bir patojen olan *S. maltophilia*'nın başta TMP/SMX olmak üzere antimikrobiyal ajanlara direnç durumunun takibi, direnç genlerinin saptanması ve direncin aktarımında önemli olan mobil genetik elementlerin tanımlanması akılcı

antibiyotik kullanım politikalarının oluşturulması açısından gereklidir. *S. maltophilia*'nın bulaş yolları araştırılarak önleyici stratejilerin geliştirilmesinde ve alınan enfeksiyon kontrol önlemlerinin etkinliğinin izlenmesinde izolatlar arasındaki klonal ilişkiyi belirlemeye yönelik moleküler epidemiyolojik çalışmalar büyük önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal duyarlılık, integron, moleküler epidemiyoloji, *Stenotrophomonas maltophilia*, *sul*

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY AND MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF CLINICAL *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* ISOLATES

ABSTRACT

Aim: The aims of this study were to determine clinical *Stenotrophomonas maltophilia* isolates' susceptibility against commonly used antimicrobial agents, to investigate the presence of different classes of integrons and *sul* genes responsible for sulphonamide resistance, and to assess the molecular epidemiology of the isolates by determining their clonal relatedness.

Materials and methods: *S. maltophilia* isolates from clinical specimens of hospitalized patients in Erciyes University Health Practice and Research Center clinics between November 2013-March 2015 were included in the study. Bacterial identification was performed by using conventional methods and automated Phoenix ID (Becton Dickinson, USA) system. Minimal inhibitory concentrations (MICs) for trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP/SMX) were determined by Etest (bioMérieux, France), whereas MICs for ceftazidime and levofloxacin were determined by broth microdilution method. All isolates were screened by polymerase chain reaction (PCR) for integron associated integrase genes *intI1*, *intI2*, *intI3*, and *sul1*, *sul2*, *sul3* genes. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) was used to determine clonal relatedness of the isolates.

Results: Ninety-nine clinical *S. maltophilia* isolates in the study were mainly isolated from patients in intensive care units (47.5%) and generally from respiratory tract (46.5%) and blood (28.3%) samples. Susceptibility rates for TMP/SMX, levofloxacin, and ceftazidime were found to be 90.9%, 91.9%, and 53.5% respectively. All of the TMP/SMX-resistant isolates were positive for *intI1* and *sul1* genes by PCR. *intI2*, *intI3*, *sul2*, and *sul3* were not detected in any of the isolates. According to PFGE analysis 75 isolates were found to be sporadic, while 24 of them were clonally related (similarity coefficient $\geq 90\%$). Clonally-related isolates were clustered in seven different clones containing 2-7 isolates each.

Conclusion: In order to develop rational antibiotic usage policies for nosocomial pathogen *S. maltophilia*, antimicrobial resistance rates, particularly to TMP/SMX should be monitored, and resistance genes as well as mobile genetic elements responsible for acquisition of resistance should be characterized. Molecular

epidemiological studies determining clonal relatedness of isolates are quite important for developing preventive strategies by investigating transmission routes of *S. maltophilia* and for tracing effectiveness of infection control precautions.

Keywords: Antimicrobial susceptibility, integron, molecular epidemiology, *Stenotrophomonas maltophilia*, *sul*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Stenotrophomonas maltophilia, özellikle nemli ortamlarda olmak üzere, doğada ve hastanelerde yaygın olarak bulunan çevresel bir mikroorganizmadır (1). Nozokomiyal enfeksiyonlara yol açması bakımından dünya genelinde önemi giderek artan *S. maltophilia*, konak savunma mekanizmalarının bozulduğu yoğun bakım hastalarında ve immün yetmezlikli bireylerde ciddi bir fırsatçı enfeksiyon etkenidir (2-5). Bu bakteriyle ilişkili olarak başta solunum yolu enfeksiyonları olmak üzere; bakteriyemi, endokardit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, kemik ve eklem enfeksiyonları, menenjit, göz enfeksiyonları, kolanjit, peritonit ve üriner sistem enfeksiyonları gibi birçok klinik tablo ortaya çıkabilmektedir (3, 6).

Birçok antibiyotiğe kalıtsal olarak direnç göstermesi ve horizontal gen transferi veya mutasyonlarla yeni direnç mekanizmaları kazanabilmesi nedeniyle *S. maltophilia*'nın yol açtığı enfeksiyonların tedavisi güçtür (7). Trimetoprim-sülfametoksazol (TMP/SMX), tedavide tercih edilen ilk antimikrobiyal ajandır; ancak dünya genelinde yapılan çalışmalarda bu antibiyotiğe karşı değişen oranlarda direnç bildirilmektedir (5, 8). Sınıf 1 integronlarla taşınan *sul1* geni ve insertion sequence common region (ISCR) elementleri ile ilişkili *sul2* geni, *S. maltophilia*'da TMP/SMX direnciyle ilişkili bulunmuştur. TMP/SMX direncinin hareketli genetik elementler aracılığıyla artış gösterme potansiyeli taşımasından ötürü süzgeç çalışmaları yapılması önerilmektedir (9).

Tedavide problemlere yol açması bakımından başta çoklu dirençli mikroorganizmalar olmak üzere nozokomiyal patojenlerin epidemiyolojik olarak

tiplendirilmesi, bu etkenlerin yayılımının izlenmesine olanak sağlar (10). Bu bağlamda, *S. maltophilia*'ya bağlı nozokomiyal enfeksiyonların kontrolü açısından antibiyotik direnç paternlerinin belirlenmesinin yanında, izolatların moleküler epidemiyolojik çalışmalarla tiplendirilmesi de önem taşımaktadır (11).

Bu çalışmada, klinik *S. maltophilia* izolatlarının tedavide sık kullanılan antimikrobiyal ajanlara duyarlılık durumunun belirlenmesi, farklı sınıflardaki integronların ve *sul* genlerinin varlığının araştırılması, pulsed field jel elektroforezi (PFGE) yöntemi ile moleküler epidemiyolojisinin incelenmesi ve gerekli durumlarda uygun çevresel örnekler alınarak bulaş kaynaklarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Stenotrophomonas maltophilia*

2.1.1. Tarihçe ve sınıflandırma

Stenotrophomonas maltophilia, ilk olarak İngiltere’de 1943 yılında J. L. Edwards tarafından plevra sıvısından izole edilip *Bacterium bookeri* olarak adlandırılmış ve muhtemel bir deri kontaminantı olarak bildirilmiştir (12). Hugh tarafından 1958 yılında oral karsinomu olan bir hastanın orofaringeal sürüntü örneğinden izole edilmiş ve 1960 yılında Hugh ve Ryschenkow tarafından *Pseudomonas maltophilia* olarak adlandırılmıştır (13). Fenotipik ve genotipik çalışmalar sonucunda Swings ve ark., türün *Xanthomonas* genusuna dahil edilmesini önermişlerdir (14). Ancak bu görüş yeterince kabul görmemiş ve flajella sayısı, nitrat redüksiyon özellikleri, fimbriasyon ve bitki patojenite özellikleri de dahil olmak üzere birçok farklılık bildirilerek 1993 yılında Palleroni ve Bradbury tarafından tek üyesi *Stenotrophomonas maltophilia* olan *Stenotrophomonas* genusu ilk defa tanımlanmıştır (3, 15). Dört yıl sonra yeni bir tür olarak *Stenotrophomonas africana* tanımlanmış olsa da, sonrasında Coenye ve ark. tarafından bu türün aslında *S. maltophilia* ile aynı olduğu gösterilmiştir (16). Son zamanlarda, *Stenotrophomonas nitritireducens*, *Stenotrophomonas acidaminiphila*, *Stenotrophomonas rhizophila*, *Stenotrophomonas koreensis*, *Stenotrophomonas humi*, *Stenotrophomonas terrae*, *Stenotrophomonas ginsengisoli* ve *Stenotrophomonas daejeonensis* olmak üzere sekiz ilave çevresel *Stenotrophomonas* türü tanımlanmıştır (17).

2.1.2. Morfolojik özellikler

S. maltophilia, 0.7-1.8 µm uzunluğunda, 0.4-0.7 µm genişliğinde, düz, tek veya çiftler halinde görünen, sporsuz ve polar flajellaları sayesinde hareketli bir Gram negatif basildir (3, 15).

2.1.3. Üreme ve kültür özellikleri

S. maltophilia, zorunlu aerob bir mikroorganizmadır. Üremesi için en uygun sıcaklık 35°C olup, 5-40°C aralığında üreyebilmektedir (15). İzolasyonunda %5 koyun kanlı agar, çikolatamsı agar, MacConkey agar gibi standart bakteriyolojik besiyerleri kullanılabilir. Koyun kanlı agarda düzgün, parlak, beyaz, soluk sarı veya lavanta-yeşili renkte ve amonyak benzeri kokusu olan koloniler meydana getirir. Bazen beta hemoliz ve üremenin yoğun olduğu kısımda yeşilimsi renk değişikliği görülebilir. MacConkey agarda laktozu fermente etmeyen şeffaf koloniler oluşturur. Bazı suşlar saydam besiyerlerinde kahverengimsi pigmentasyon meydana getirebilir (1, 15).

2.1.4. Biyokimyasal özellikleri

S. maltophilia, katalaz pozitif bir mikroorganizmadır. Nadiren oksidaz pozitifliği görülebilse de çoğunluğunun oksidaz negatif olduğu düşünülmektedir (2, 3, 6). Nispeten inaktif bir metabolizmaya sahiptir. İdentifikasyonunda kullanılan temel biyokimyasal özellikler; maltozda daha yoğun olmak üzere glukoz ve maltoz oksidasyonu, pozitif DNaz ve lizin dekarboksilaz aktivitesidir. Özellikle DNaz aktivitesi sayesinde glukoz oksidasyonu yapan diğer Gram negatif basillerden ayrılır. Ayrıca eskülin hidrolizi pozitif olup; ornitin dekarboksilaz, üreaz ve indol reaksiyonları ise negatiftir (3, 15). *S. maltophilia*'nın bazı biyokimyasal özellikleri Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. *S. maltophilia*'nın biyokimyasal özellikleri (3, 6, 15).

Test	Reaksiyon	Test	Reaksiyon
Oksidaz	-	DNaz üretimi	+
Katalaz	+	Üre hidrolizi	-
Hareket	+	Adonitol	-
Nitrat redüksiyonu	+	Arabinoz	-
İndol	-	β -Hidroksibütirat	-
Lizin dekarboksilaz	+	Sellobiyoz	d
Ornitin dekarboksilaz	-	Dulsitol	-
Arjinin dihidrolaz	-	Glukoz	+
Metil kırmızısı	-	Fruktoz	d
Voges-Proskauer	-	Galaktoz	d
H ₂ S	-	Laktoz	+
Sitrat	d	Maltoz	+
Fenilalanin deaminaz	-	Mannitol	-
β -Galaktozidaz (ONPG)	d	Mannoz	d
Eskülin hidrolizi	+	Ramnoz	-
Jelatin likefaksiyonu	+	Salisin	-
Tween 80 hidrolizi	+	Sorbitol	-
Nişasta hidrolizi	-	Trehaloz	-

+, $\geq$ %85 suş pozitif; d (değişken), %16-84 suş pozitif; -, $\leq$ %15 suş pozitif; ONPG, *o*-nitrofenil- β -D-galaktopiranozid.

2.1.5. Virülans faktörleri ve patogenezi

Artan klinik önemine rağmen *S. maltophilia*'nın virülansı ve patogenezi ile ilgi bilgiler sınırlıdır ve virülansın genetik ve moleküler temelleri yeterince iyi tanımlanmamıştır (18, 19). *S. maltophilia*'nın kabul görmüş bazı virülans faktörleri Tablo 2.2'de özetlenmiştir.

Biyofilm oluşumu, patogenezi de rol oynayan önemli moleküler mekanizmalardan biridir. Biyofilm oluşumunun nozokomiyal enfeksiyonların %65'i ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. *S. maltophilia*, hastane su tesisat sistemleri, endotrakeal tüpler, kateterler, diyaliz ekipmanları, lavabo ve musluklar gibi hastalarla direkt veya indirekt teması olan nemli yüzeylerde ve konak dokusunda biyofilm oluşturabilmektedir (6). Biyofilm oluşumunun ilk aşamalarından biri bakteri hücrelerinin yüzeye tutunmasıdır.

S. maltophilia'nın adhezyonunda aynı zamanda bakterinin hareketinden de sorumlu olan fimbria ve flajellalarının önemli rol oynadığı gösterilmiştir (20-22). Biyofilm varlığında, antibiyotiklerin bakteriler ile temasa geçmesinde güçlük olması ve biyofilmin yapısına katılan bakterilerin sergilediği farklı metabolik durum sebebiyle antibiyotiklere duyarlılıkta azalma meydana gelmektedir (7).

Bakteriyel adhezyon, aynı zamanda enfeksiyon hastalıklarının patogeneğinde de ilk basamağı oluşturmaktadır (23). *S. maltophilia*, fimbria ve flajellaları aracılığıyla prostetik yüzeylere olduğu gibi canlı yüzeylere de tutunabilmektedir (21, 24, 25). *S. maltophilia*'nın tüm genom sekans analizinde, adhezyon ve yayılımla ilişkili olduğu bilinen filamentöz hemaglutinin proteinlerini kodlayan gen bölgelerinin varlığı da gösterilmiştir (26).

Quorum sensing (QS), hücre popülasyon yoğunluğundaki dalgalanmalara cevap olarak gen ekspresyonunda regülasyona gidilmesidir. Bakteriler, otoindükleyiciler adı verilen kimyasal sinyal molekülleri salgılar ve hücre yoğunluğundaki artışın sonucu olarak bu moleküller ekstrasellüler olarak birikir. Otoindükleyici konsantrasyonu, belirli bir minimal eşik değeri geçtiğinde gen ekspresyonunda değişiklikler meydana gelir. Bu mekanizma ile simbiyoz, virülans, kompetans, konjugasyon, antibiyotik üretimi, hareket, sporulasyon ve biyofilm oluşumu gibi birçok fizyolojik aktivite regüle edilir. Genel olarak Gram negatif bakteriler otoindükleyici olarak açillenmiş homoserin lakton yapısındaki molekülleri kullanırlar (LuxI/LuxR tipi QS) (27, 28). *S. maltophilia*, LuxI/LuxR sistemi yerine dağılabilir (diffusible) sinyal faktör (DSF) sistemini kullanır (6, 26, 29). cis-11-metil-2-dodesenoik asit yapısındaki DSF'nin bakterilerce üretiminde ve algılanmasında *rpf* gen kümesi tarafından kodlanan proteinler görev almaktadır. DSF sisteminin *S. maltophilia*'da virülans ve antimikrobiyal direnç aracılık eden faktörleri kontrol ettiği gösterilmiştir (30, 31).

Gram negatif bakterilerin dış membranında bulunan lipopolisakkarid (LPS), antimikrobiyallere ve deterjanlara karşı bir bariyer görevi görür ve hücre bütünlüğünün sağlanmasında önemlidir (22). *S. maltophilia*, lipid A, oligosakkarid çekirdek ve O antijeninden oluşan LPS'ye sahiptir ve en az 31 farklı O antijeni tanımlanmıştır (6, 32). Bunlar içerisinde en sık O3 antijenine rastlanmaktadır. *S. maltophilia*'nın O antijeninin *Brucella* türleri ve *Legionella pneumophila* ile çapraz reaksiyon verebildiği

gösterilmiştir (15). *S. maltophilia*'nın LPS yapısı, kompleman aracılı hücre ölümüne dirençten ve kolonizasyondan sorumlu önemli bir virülans faktörüdür (5, 33). LPS biyosentezinde görev alan genlerdeki mutasyonların LPS yapısında değişikliğe ve sonuçta bazı antimikrobiyal ajanlara dirençte ılımlı azalmaya ve hareket, tutunma ve biyofilm oluşumunda değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir (22, 33). Lipid A parçası, potent bir proinflatuvar sitokin olan tümör nekroz faktörü α (TNF- α) salınımını uyarmaktadır. *S. maltophilia* ayrıca interlökin-8 (IL-8) salınımını da uyarak polimorfonükleer lökosit göçüne sebep olmaktadır (32).

Klinik *S. maltophilia* izolatları, jelatinaz, DNaz, lipaz, hemolizin ve proteaz gibi ekstrasellüler enzimler üretebilmektedir. Ayrıca lesitinaz, heparinaz ve hyaluronidaz aktivitelerine de rastlanabilmektedir (34).

Protein sekresyon sistemleri, efektör proteinlerin hücre membranından çevreye salınımına aracılık eder ve bakteriyel virülans için önemli bir faktördür. *S. maltophilia*'da tip I, II, IV, V ve VI sekresyon sistemlerine rastlanabilmektedir (26, 35). Gram negatif bakterilerde yaygın olarak bulunduğu bilinen tip II sekresyon sisteminin *S. maltophilia*'da proteolitik enzimlerin salınımına, konak hücre iskeletinde bozulmaya ve sitotoksik etkilere aracılık ettiği gösterilmiştir (18). Bu proteolitik aktivite ve konak hücre hasarından, birer serin proteaz olan StmPr1 ve StmPr2 enzimleri esas olarak sorumlu tutulmuştur. Söz konusu enzimlerin aynı zamanda ekstrasellüler matriks proteinlerinde parçalanmaya ve IL-8 yıkımına da yol açtığı gösterilmiştir (19).

Melanin gibi pigmentlerin üretimi, bakterileri konağın savunma mekanizmalarından ve çevresel faktörlerden korumaktadır. Ayrıca melanin üretiminin antibiyotik direnci ile de ilişkili olabileceği gösterilmiştir. İnvaziv ve non-invaziv klinik *S. maltophilia* izolatlarının çoğunda melanin üretimi görülebilmektedir (34, 36).

S. maltophilia, siderofor sentezleyebilen mikroorganizmalardan biridir. Sideroforlar, birçok biyolojik süreç için esansiyel olan demirin bakteri tarafından hücre içine alınmasına aracılık eder ve mikroorganizmaların konak vücudunda hayatta kalmasını sağlaması açısından çoğu patojen için önemli bir virülans faktörüdür (37, 38).

Tablo 2.2. *S. maltophilia*'nın kabul edilen bazı virölans faktörleri (35).

Virölans faktörü	Fonksiyon	İlgili genler
Fimbria	Adhezyon, kolonizasyon, biyofilm oluşumu	<i>smf-1</i>
Proteaz	Protein lizisi	<i>StmPr</i>
Hemolizin	Hemoliz	<i>hly</i>
Lipopolisakkarid	Konak ortamında canlılığın sürdürülmesi	<i>rmlA, rmlC, xanB, spgM</i>
Zonula okludens toksini benzeri protein	Bilinmiyor, <i>Vibrio cholerae</i> 'nin zonula okludens toksinine benzer	<i>zot</i>
Siderofor	Demirin hücre içine alınması	<i>entACF</i>
Fosfolipaz C	Hücre membranının parçalanması	<i>plcN1</i>
Hemaglutinin	Adhezyon ve yayılma	<i>fha</i>
Sekresyon sistemleri	Effektör proteinlerin sekresyonu	<i>hlyB/D, gsp, VirB/D, xps</i>

2.2. *S. maltophilia* Enfeksiyonları

S. maltophilia tipik olarak sağlıklı bireyler için patojenik olmamakla birlikte iyi bilinen bir fırsatçı patojendir. Özellikle debil, bağışıklık sistemi baskılanmış veya yoğun bakım ünitelerinde mekanik ventilasyonla takip edilen hastalarda ciddi morbidite ve mortalite ile ilişkili bir nozokomiyal enfeksiyon etkenidir (3).

2.2.1. Epidemiyoloji

S. maltophilia enfeksiyonlarının insidansı son yıllarda artış göstermektedir (3). Genel popülasyondaki prevalansı 1997-2003 yılları arasında %0.8-1.4 iken, 2007-2012 yılları arasında %1.3-1.68'e yükselmiştir (8). Bu durum, kemoterapi ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı ve invaziv tıbbi uygulamalardaki artışın sonucu olarak risk altında olan hasta popülasyonundaki artışa bağlanabilir (39). Tüm Gram negatif basiller arasında *S. maltophilia* izolasyon oranı %2.29 ile %2.7 arasında değişmektedir. Nonfermenter Gram negatif basiller arasında ise *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii*'den sonra üçüncü en sık izole edilen patojendir (8).

S. maltophilia'ya bağlı toplum kaynaklı enfeksiyonlar görülebilmekle birlikte büyük çoğunluğu nozokomiyaldır ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından hastanelerde önde gelen çoklu ilaca dirençli mikroorganizmalar arasında gösterilmektedir (1, 40). Hem genel popölasyonda hem de yoğun bakım hastalarında en sık solunum yolu enfeksiyonlarına ve ikinci sıklıkta da kan dolaşımı enfeksiyonlarına yol açmaktadır. Solunum yolu enfeksiyonlarının prevalansı 1997-2004 yılları arasında %3.3-3.5 iken, 2009-2012 yılları arasında %4.4'e yükselmiştir (8). Kistik fibrozis (KF) hastalarında da *S. maltophilia* prevalansı, merkezler arasında farklılık olmakla birlikte artış göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde 1996 yılında %4 olarak bildirilen prevalans, 2010 yılında %14'e ulaşmıştır. Bazı merkezlerde KF hastalarının balgam kültüründe *S. maltophilia* izole edilme oranı %25'e kadar çıkabilmektedir (41).

2.2.2. Risk faktörleri ve bulaş

S. maltophilia, çevresel bir mikroorganizmadır ve besin maddelerinden fakir nemli ortamlarda varlığını sürdürebilmektedir. Suyula ilişkili, hastane içi ve dışı birçok kaynaktan izole edilmiştir (6). *S. maltophilia*'ya bağlı nozokomiyal enfeksiyonlardaki artış sebebiyle bu bakterinin hastane ortamındaki varlığı yakından incelenmektedir (3). Aspirasyon tüpleri, mekanik ventilasyon cihazları, santral venöz kateterler, nebulizatörler, endoskoplar, diyaliz ekipmanları, dezenfektanlar, sabunlar, irrigasyon solüsyonları, lavabo ve musluklardan izole edilmiştir. Bulaş, kaynakla direkt temas sonucu veya sağlık personelinin elleri ile olabilmektedir. Ayrıca KF hastalarında öksürük sonucu meydana gelen aerosoller de bulaştırma potansiyeli taşımaktadır (6). Moleküler epidemiyolojik çalışmalar sonucunda izolatlar arasında ciddi oranda genomik çeşitlilik saptanması, bulaşın tek bir kaynaktan ziyade çok sayıda çevresel kaynaktan gerçekleştiğini düşündürmektedir (42). *S. maltophilia* normal flora elemanı olmamakla birlikte, hastanelerdeki yüksek prevalansı sebebiyle hastaların derisinde, solunum yollarında ve sindirim kanalında kolonize olabilmekte ve intravenöz veya üriner kateterizasyon gibi tıbbi girişimler ile normalde steril olan vücut bölgelerine ulaşabilmektedir (1, 43). Çoğu beta-laktam ve aminoglikozid grubu antibiyotiğe kalıtsal olarak dirençli olması nedeniyle geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı *S. maltophilia* kolonizasyonunu kolaylaştırmaktadır (2).

S. maltophilia, nozokomiyal enfeksiyonlar yanında toplum kaynaklı bakteriyemi, göz enfeksiyonları, otit, solunum yolu enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ve idrar yolu enfeksiyonlarına da yol açabilmektedir. Bu hastalarda sıklıkla, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), travma, HIV enfeksiyonu ve immüniteyi baskılayan diğer faktörler, malignensi, antibiyotik kullanımı, hastanede yatış öyküsü ve santral venöz kateter varlığı gibi komorbid durumlar söz konusudur (6, 44). Lavabo giderleri, musluklar, içme suyu dağıtım sistemleri, kontakt lens solüsyonları, evde kullanılan nebulizatörler hastane dışı kaynaklar arasında gösterilmektedir (6).

Genel olarak *S. maltophilia* enfeksiyonları için risk faktörleri şu şekilde sıralanabilir (45):

- 1) Malignensi (özellikle hematolojik)
- 2) HIV enfeksiyonu
- 3) Kistik fibrozis
- 4) İntravenöz ilaç bağımlılığı
- 5) Travma (cerrahi travma veya kaza)
- 6) Uzun hospitalizasyon
- 7) Yoğun bakım ünitesinde yatış ve mekanik ventilasyon
- 8) Damar içi kateterler ve üriner kateterler
- 9) Kortikosteroid ve immünosüpresif tedavi
- 10) Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı
- 11) Gastrointestinal kolonizasyon ve mukozit
- 12) Hematopoietik kök hücre nakli

2.2.3. Klinik tablolar

2.2.3.1. Solunum yolu enfeksiyonları

Yatan hastalarda solunum yolları, *S. maltophilia*'nın en sık izole edildiği bölge olup isolatların %56-69'unun kaynağını oluşturmaktadır (15, 46). Biyofilm oluşturma özelliği sayesinde yatan hastaların solunum yollarında sıklıkla kolonize olur ve böyle durumlarda enfeksiyon ile kolonizasyonun ayrımını yapmak güçtür. Katı tanısal kriterlerin kullanıldığı çalışmalarda *S. maltophilia*'nın primer pnömoni etkeni olabildiği gösterilmiştir. Ayrıca başlangıçta kolonize olan hastalarda zamanla enfeksiyon

gelişebilmektedir (42, 47). *S. maltophilia*'ya bağlı nozokomiyal pnömoniler mekanik ventilasyon, trakeostomi, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, nebulizatör gibi solunum yolu cihazlarının kullanımı ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca çoğu hastada KOAH, bronşiektazi, kifoskolyoz veya endobronşiyal obstrüksiyon gibi altta yatan akciğer problemleri bulunmaktadır (15, 46). Semptom ve bulgular diğer bakteriyel pnömonilere benzerdir. Genellikle akciğerin alt loblarını tutar ve bazen plevral efüzyon da eşlik edebilir (48). Mortalite oranları, kanser hastalarında ve eşlik eden bakteriyemi varlığında daha yüksek olmak üzere %23 ile %77 arasında değişmektedir. Uygunsuz ampirik antibiyoterapi, yoğun bakım ünitesinde yatış ve septik şok varlığı fatal seyirle yakından ilişkilidir (5). Ayrıca nötropenik ve trombositopenik hastalarda fulminan hemorajik pnömoni gelişme riski vardır (48). *S. maltophilia* pnömonisinde atfedilen mortalite %20 ile %30 arasındadır (5).

Özellikle uzun süreli antibiyotik tedavisi alanlarda olmak üzere, KF hastalarında *S. maltophilia* ile kolonizasyon ve kronik enfeksiyon sık görülmektedir. Kronik *S. maltophilia* enfeksiyonu olan KF hastalarında diğer KF hastalarına kıyasla akciğer fonksiyonlarına ait parametrelerde daha fazla bozulma ve alevlenme sıklığında artış tespit edilmekle birlikte KF hastalarında *S. maltophilia*'nın prognostik önemi henüz net değildir (15, 49, 50).

Üst solunum yollarında *S. maltophilia*'nın gerçek enfeksiyona neden olduğu durumlar oldukça nadirdir ve faringeal sürüntülerden izole edilmesinin klinik önemi belirsizdir (15, 46).

2.2.3.2. Kan dolaşımı enfeksiyonları

Bakteriyemi, *S. maltophilia* enfeksiyonlarının sık görülen bir şeklidir ve sıklığında artış izlenmektedir. Bakteriyeminin en önemli kaynağı santral venöz kateterlerdir. Ayrıca pulmoner, üriner veya gastrointestinal kaynağa sekonder olarak da bakteriyemi ortaya çıkabilmekte, ancak giriş yerinin saptanması her zaman mümkün olmamaktadır (5, 15, 46).

S. maltophilia bakteriyemilerinin %76'sı hastane kaynaklıdır. Kritik hastalarda, santral venöz kateterlerle ilişkili enfeksiyonlar nozokomiyal bakteriyemilerin en sık sebebidir

(45). *S. maltophilia*, infüze kontamine edebilmekte, katetere tutunup kateter yüzeyinde biyofilm meydana getirebilmektedir (6).

S. maltophilia bakteriyemisinde kaba mortalite %14 ile %69 arasında değişmektedir. Atfedilen mortalite ise %26.7 olarak bulunmuştur ve bu oran diğer nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarındaki oranlara benzerdir (42). Uygun antimikrobiyal tedavi ve enfekte kateterin çıkarılması iyi prognozla ilişkilidir (45). *S. maltophilia* septisemisi, dissemine intravasküler koagülasyon, purpura fulminans ve ektima gangrenozum ile komplike olabilmektedir (15).

Kan kültürü örneklerinin tekniğe uygun alınmaması sonucunda *S. maltophilia* kontaminasyonu nedeniyle psödobakteriyemiler görülebilmektedir (46).

2.2.3.3. Endokardit

S. maltophilia endokarditi nadir olarak görülmektedir. Doğal ve yapay kapaklarda meydana gelebilir. Geçirilmiş kardiyak cerrahi, dental müdahaleler, kalp kapak defektleri, enfekte intravasküler kateterler, intravenöz ilaç bağımlılığı ve ventriküloatrial şantlar risk faktörleri arasında sayılmaktadır (46, 48). Mortalite ve komplikasyon görülme oranları yüksektir. Komplikasyonları arasında septik embolizm, kardiyak apse ve konjestif kalp yetmezliği bulunmaktadır (51). Bazı olgularda antimikrobiyal tedavi tek başına yeterli olurken, bazılarında enfekte kapağın cerrahi yolla değiştirilmesi de gerekebilmektedir (46).

2.2.3.4. Üriner sistem enfeksiyonları

İdrar örneklerinden *S. maltophilia*'nın izole edilmesi, kolonizasyonu veya enfeksiyonu gösterebilmektedir. Predispozan faktörler arasında üriner sistem cerrahisi, yapısal anomaliler, üriner kateterizasyon, nötropeni, kronik böbrek yetmezliği, diyabet ve AIDS bulunmaktadır. Çoğunluğu nozokomiyaldir. Semptomlar lokalize veya sistemik olabilmektedir. Kanser hastalarında *S. maltophilia*'ya bağlı idrar yolu enfeksiyonları genellikle komplikedir ve bakteriyemi kaynağı olabilmektedir (46, 48). Ayrıca *S. maltophilia* ile ilişkili üretrit, periüretal apse ve epididimit olguları bildirilmiştir (46).

2.2.3.5. Santral sinir sistemi enfeksiyonları

S. maltophilia'ya bağlı menenjit nadir görülmektedir. Yenidoğan ve bebeklerde spontan olarak gelişebilirken, erişkinlerde genellikle cerrahi sonrası ortaya çıkmaktadır. Nörocerrahi sonrası menenjit gelişen, geniş spektrumlu antibiyotiklere cevapsız, immünosüprese ve beyin omurilik sıvısı (BOS) şantı, ventrikülostomi tüpü, Ommaya rezervuarı gibi yabancı cisimlerin bulunduğu olgularda *S. maltophilia*'dan şüphelenilmelidir. Cerrahi sonrası gelişen menenjitler cerrahi ile ilişkisiz olanlara göre daha sessiz başlangıçlı, uzun seyirli ve iyi prognozludur (46, 48).

2.2.3.6. Oftalmolojik enfeksiyonlar

S. maltophilia'ya bağlı göz enfeksiyonları nadir görülmekle birlikte sıklığında artış izlenmektedir. *S. maltophilia*, kontakt lensleri ve bakım solüsyonlarını kontamine edebilmektedir. Kontakt lens kullanıcılarında ve oküler girişim veya penetran travma öyküsü olan olgularda bu bakteriyle ilişkili konjunktivit, keratit, endoftalmit, dakriyosistit ve preseptal selülit bildirilmiştir (46, 48).

2.2.3.7. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları

S. maltophilia yaralardan ve diğer deri lezyonlarından nispeten sık olarak izole edilmekte, ancak gerçek enfeksiyon ile kolonizasyon ayrımının yapılması gerekmektedir. Travma veya cerrahi sonrası gelişen yaralar, yanıkla ilişkili yaralar ve kronik ülserler *S. maltophilia* ile enfekte olabilmektedir. Ayrıca deri bütünlüğünün iatrojenik olarak bozulduğu trakeostomi, jejunostomi, endovasküler, peritoneal veya suprapubik kateter bölgelerinde de enfeksiyon oluşturabilmektedir. Nötropenik hastalarda öncesinde travma öyküsü olmadan da ciddi sellülit ve miyozit gelişebildiği bildirilmiştir. Ayrıca immünosüprese hastalarda bakteriyemiye sekonder ektima gangrenozum veya eritemle çevrili çoklu nodüler lezyonlar şeklinde izlenebilen metastatik selülit tabloları görülebilmektedir (15, 48).

2.2.3.8. Kemik ve eklem enfeksiyonları

Ortopedik cerrahi veya travma sonrası nadir de olsa *S. maltophilia*'ya bağlı kemik ve eklem enfeksiyonları görülebilmektedir. Bu bakteriyle ilişkili septik artrit, osteomyelit ve septik bursit olguları bildirilmiştir (15, 48).

2.2.3.9. Gastrointestinal ve abdominal enfeksiyonlar

S. maltophilia, asit sıvısından ve karın içi apselerden izole edilmiştir. Ayrıca bu bakteriyle ilişkili olarak kronik peritoneal diyaliz hastalarında peritonit ve maligniteye sekonder safra yolu obstrüksiyonu olan olgularda kolanjit görülebilmektedir. *S. maltophilia*, dışkıda ve myelosüpresif kemoterapi alan kanser hastalarının ağız boşluğunda asemptomatik olarak bulunabilmektedir (15, 48).

2.2.4. Laboratuvar tanısı

S. maltophilia, çeşitli olumsuz çevre şartlarında ve klinik ortamlarda mevcut olan sıcaklık derecelerinde hayatta kalabilmektedir. Dolayısıyla klinik örneklerden bu mikroorganizmanın izolasyonunda, standart örnek alma, transport ve saklama teknikleri yeterlidir (3). Klinik laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan %5 koyun kanlı agar, çikolatamsı agar ve McConkey agar gibi standart besiyerlerinde, normal ortam havasında veya %5 CO₂ varlığında bir gecelik inkübasyonu takiben üretilmektedir (15). Sıvı besiyeri bazlı kan kültürü sistemlerinde standart beş günlük inkübasyon periyodunda saptanabilmektedir. Dolayısıyla lizis santrifüjasyon gibi özel tekniklerin kullanımına veya inkübasyon süresinin uzatılmasına gerek yoktur (3).

Selektif besiyerlerinin kullanımı klinik ve çevresel örneklerden *S. maltophilia* izolasyon oranlarını artırmaktadır. Bu amaçla KF hastalarının balgamından *S. maltophilia* izolasyonunda kullanılmak üzere vankomisin, imipenem ve amfoterisin B içeren VIA besiyeri geliştirilmiştir (3, 52). Benzer şekilde Gram negatif selektif agar (GNSA) besiyerinde KF hastalarının balgamındaki Gram negatif mikroflora tespit edilebilmektedir. Novobiyosin, sikloheksimid, amfoterisin, nisin ve kristal viyole içeren GNSA'da *S. maltophilia*'ya ek olarak, KF hastalarının balgam örneklerinden izole edilebilen diğer Gram negatif bakteriler de üreyebilmektedir (53). Bu besiyerleri dışında maltoz, DL-metiyonin, vankomisin, imipenem, amfoterisin B ve brom timol mavisi eklenmiş, Mueller-Hinton agar içeren SM2i besiyeri *S. maltophilia* izolasyonunda selektif ve ayırt edici bir besiyeri olarak kullanılabilmektedir. SM2i agarda *S. maltophilia* kolonileri mavi-yeşil renkli bir halo ile çevrilmiş, düzgün, yuvarlak, yeşil renkli koloniler şeklinde görünmektedir (54).

S. maltophilia'nın muhtemel identifikasyonunda koloni morfolojisi ve biyokimyasal özelliklerinden yararlanılabilir (2). *Burkholderia cepacia* ile benzer biyokimyasal profil gösterebilmekle birlikte negatif oksidaz testi sonucu çoğunlukla *B. cepacia*'yı düşündürmez (1). Kesin identifikasyonunda 23S rRNA genini hedef alan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi ile %100 duyarlılık ve özgüllük saptanmıştır. Bu PCR testi ile kıyaslandığında API 20NE (bioMérieux, Fransa) ve VITEK 2 ID-GNB (bioMérieux, Fransa) kartlarının güvenilir identifikasyon sağladığı gösterilmiştir (3). Ayrıca RapID NF Plus (Remel, ABD), Crystal Enteric/Nonfermenter ID (Becton Dickinson, ABD), Phoenix ID (Becton Dickinson, ABD) gibi diğer ticari sistemlerle de *S. maltophilia* tanımlanabilmektedir (2). Günümüzde, nükleik asit sekanslama veya kütle spektrofotometrisi temelli yöntemler fenotipik yöntemlere göre daha hızlı ve daha doğru sonuç sağlaması sebebiyle nonfermenterlerin identifikasyonunda daha sık kullanılmaya başlamıştır (55).

2.2.5. Tedavi

S. maltophilia, yatan hastalarda kolonize olabildiği için özellikle steril olmayan vücut bölgelerinden izole edildiğinde klinik önemini belirlemek zor olabilmektedir. Klinik olarak hastalık tablosu varlığında steril olmayan bölgelerden alınan örneklerde bu mikroorganizmanın tekrarlayan izolasyonu sıklıkla tedavi gerektirmektedir (1, 56).

S. maltophilia'nın birçok antibiyotiğe dirençli olması tedavi seçeneklerini kısıtlamakta ve tedavide ilk tercih edilen ajan trimetoprim-sülfametoksazol (TMP/SMX) olmaktadır. Minosiklin, tikarsilin-klavulonat ve kloramfenikol gibi diğer bazı ajanlar *in vitro* aktivite gösterebilse de bu ajanlarla ilgili yeterli klinik tecrübe bulunmamaktadır. Dolayısıyla bu ajanlar ancak TMP/SMX'e dirençli suşların varlığında tedavide düşünülmelidir. Buna rağmen, *S. maltophilia* hızla direnç geliştirebildiği için bu ajanların potansiyel etkinliği de şüphelidir (1). *S. maltophilia* enfeksiyonlarında önerilen tedavi seçenekleri Tablo 2.3'te gösterilmiştir. Antimikrobiyal tedavinin yanında, varsa vasküler kateterin ya da prostetik materyalin çıkarılmasının tedaviye cevapta önemli olduğu belirtilmektedir (46).

Tablo 2.3. *S. maltophilia* enfeksiyonları için önerilen tedavi seçenekleri (56).

Birinci seçenek	Trimetoprim-sülfametoksazol
İkinci seçenek	Moksifloksasin/Levofloksasin Minosiklin/Tigesiklin Kolistin ($\pm$ Rifampin)
Kombinasyon	Trimetoprim-sülfametoksazol + ikinci sıra ilaçlardan biri veya seftazidim
Alternatif kombinasyon	Tikarsilin-klavulonat + Aztreonam + Moksifloksasin/Levofloksasin

2.2.5.1. Trimetoprim-sülfametoksazol

Birçok mikroorganizma için *p*-aminobenzoik asit (PABA), folik asit sentezinde görev alan esansiyel bir metabolittir. PABA'nın, adenosin trifosfat (ATP) bağımlı bir reaksiyon ile pteridin molekülüyle birleşmesi sonucu dihidropteroik asit meydana gelir. PABA'nın yapısal analogu olan sülfametoksazol, dihidropteroat sentaz enzimini inhibe eder. Trimetoprim (3, 4, 5-trimetoksibenzilprimidin) ise dihidrofolat redüktaz enziminin inhibisyonu ile dihidrofolik asidin tetrahidrofolik aside dönüşümünü engelleyerek etki gösterir. Folik asit sentezinin bozulması ile pürin sentezi ve dolayısıyla da DNA sentezi inhibe edilmiş olur. Trimetoprim ve sülfametoksazol birlikte kullanıldığında bu metabolik yol üzerinde ardışık inhibisyon sağlanarak sinerjizm elde edilir (57, 58).

Yüksek *in vitro* duyarlılık oranları sebebiyle TMP/SMX, *S. maltophilia* enfeksiyonlarında tek başına veya kombinasyonda ilk tercih edilen ilaç olmaktadır. Bakteriyostatik etki gösterdiği için tolere edilebilen en yüksek dozda (≥ 15 mg/kg/gün trimetoprim, 3-4 doza bölünerek) kullanılması önerilmektedir (5, 46, 56). Hipersensitivite ve intolerans, TMP/SMX kullanımını kısıtlayabilmektedir. Sık görülen bir durum olmamakla birlikte tedavi esnasında TMP/SMX direnci ortaya çıkabilmektedir. (5).

Bazı Avrupa ülkelerinde mevcut olan bir diğer trimetoprim-sülfonamid kombinasyonu trimetoprim-sülfametoldür. Bu alternatif kombinasyonun nonfermenterler üzerinde *in vitro* olarak TMP/SMX'e benzer aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (59).

2.2.5.2. Beta-laktamlar

Beta-laktam antibiyotikler, hücre duvarı sentezini inhibe eden bakterisidal etkili ajanlardır. Yapılarında ortak bir beta-laktam halkası içerdikleri için bu isimle anılırlar. Penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, monobaktamlar ve beta-laktamaz inhibitörleri bu grupta yer almaktadır (57, 60). Bakteriyel hücre duvarının majör yapısal bileşeni peptidoglikan tabakadır. Peptidoglikan sentezi transpeptidazlar, transglikozilazlar ve karboksipeptidazlar gibi enzimler tarafından katalize edilmektedir. Bu düzenleyici enzimler, beta-laktam antibiyotiklerin hedefi olduğundan penisilin bağlayıcı proteinler (PBP) olarak da adlandırılırlar. Çoğalmakta olan bakterilerde beta-laktamların bu proteinlere bağlanması ile peptidoglikan sentezi inhibe edilmiş olur (60).

Genel olarak beta-laktam antibiyotikler *S. maltophilia* üzerinde düşük etkinliğe sahiptir. *S. maltophilia*'da, tüm karbapenemlere ve çoğu penisilin ve sefalosporine yüksek düzey doğal direnç söz konusudur. Klavulonat gibi bir beta-laktamaz inhibitörü ile kombinasyon, bu antimikrobiyal ajanların *S. maltophilia* üzerine olan etkinliğini artırmaktadır (5). Seftazidim ve tikarsilin-klavulonat, beta-laktam antibiyotikler içerisinde *S. maltophilia*'ya en etkili ajanlar olarak bilinmekteyken geçtiğimiz on yıl içerisinde direnç oranlarında artış kaydedilmiştir (8). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) tarafından *S. maltophilia*, seftazidime doğal olarak dirençli kabul edilmektedir (61).

2.2.5.3. Florokinolonlar

Florokinolonlar, DNA replikasyonunda, rekombinasyonunda ve onarımında görev alan DNA topoizomera II (giraz) ve DNA topoizomera IV enzimlerini inhibe ederek mikrobiyal DNA sentezini önlerler (57, 60).

Yeni florokinolonlar, seftazidim ve tikarsilin-klavulonata göre *S. maltophilia* üzerinde daha güçlü bir etkinliğe sahip olmaları nedeniyle makul alternatifler haline gelmişlerdir. Florokinolonlar, *S. maltophilia*'ya bağlı enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak aşırı kullanılmaları, *S. maltophilia*'yı da içeren birçok patojenik bakteride direnç oranlarında artışa sebep olmuştur (8). *S. maltophilia* enfeksiyonlarının tedavisinde moksifloksasin veya levofloksasin gibi biyofilm üzerine etkili ajanların kullanımı yararlı bulunmuştur ancak hızlı direnç gelişimi nedeniyle bu

ajanların tek başına kullanılması önerilmemektedir (56). Siprofloksasin ise bu bakteri üzerinde zayıf etkinliğe sahiptir (8).

2.2.5.4. Tetrasiklinler ve glisilsiklinler

Tetrasiklinler mikrobiyal ribozomların 30S alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe eden bakteriyostatik antibiyotiklerdir. Tetrasiklin, doksisisiklin ve minosiklin bu grupta yer alan ajanlardır. Glisilsiklinler ise tetrasiklinlerin yarı sentetik analoglarıdır. Etki mekanizmaları benzer olmakla birlikte tetrasiklinlerden farklı olarak bakterisidal etki gösterirler. Bu grubun ilk temsilcisi olan tigesiklin, minosiklin türevi bir ajandır (57, 60).

Minosiklin ve doksisisiklin klinik *S. maltophilia* izolatları üzerinde *in vitro* olarak iyi etkinlik göstermektedir. Ancak bu ajanlarla *S. maltophilia* enfeksiyonlarının tedavisinde klinik tecrübe azdır. Geniş spektrumlu yeni bir antibiyotik olan tigesiklin, tetrasiklin direncine yol açan mekanizmalardan daha az etkilenmekte ve TMP/SMX'e dirençli izolatlar da dahil olmak üzere *S. maltophilia* üzerinde *in vitro* olarak aktivite göstermektedir. Bu sebeplerden ötürü tigesiklin, klinik tecrübe azlığına rağmen alternatif bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilmektedir. Özellikle nozokomiyal olanlarda olmak üzere ciddi enfeksiyonlarda kombine olarak kullanılması önerilmektedir (5, 8).

2.2.5.5. Polimiksinler

Polimiksinler, Gram negatiflerin dış membranında bulunan LPS'ler ve fosfolipidler ile etkileşime girerek hücre permeabilitesinde artışa ve sonuçta hücre ölümüne yol açan siklik polipeptidlerdir (60).

Polimiksinler, çoklu dirence sahip Gram negatif basillerin yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. *S. maltophilia*'nın kolistin ve polimiksin B'ye %70'in üzerinde duyarlı olduğu bildirilmektedir. Ancak bu antibiyotiklerin duyarlılık testlerinde sorunlar yaşanmakta ve *in vitro* olarak elde edilen verilerin klinik önemi kesin olarak bilinmemektedir (5). Yapılan *in vitro* çalışmalarda, kolistin ile rifampin, TMP/SMX ve doksisisiklin arasında sinerji gösterilmiştir (8).

2.2.5.6. Kloramfenikol

Kloramfenikol, ribozomun 50S alt birimine bağlanır ve peptidil transferaz enzimini inhibe ederek yeni amino asitlerin olgunlaşmamış peptid zincirine bağlanmasını engeller. Esas olarak bakteriyostatik etkili bir antibiyotiktir (57).

Kloramfenikol, *in vitro* olarak iyi aktivite gösterse de tedavide kullanımı minimal düzeydedir. Direnç olmadığına dair laboratuvar confirmasyonu sağlandığı durumlarda kurtarma tedavisi olarak düşünülebilir ancak myelotoksik yan etkisi unutulmamalıdır (5, 43).

2.2.6. Korunma

S. maltophilia enfeksiyonlarının önlenmesi için; uygunsuz antibiyotik kullanımından ve yabancı cisimlerin uzun süreli implantasyonundan kaçınılması, uygun steril tekniklerin uygulanması ve enfeksiyon kontrol rehberlerine uyulması, tıbbi malzemelerin dekontaminasyonunda ve sterilizasyonunda etkin protokollerin uygulanması, nozokomiyal etkenler açısından potansiyel risk taşıyan kaynaklardan (su sistemi, içilebilir su, el ve ağız yıkama suları, tıbbi aletler gibi) sürveyans için düzenli örnek alınması gerekmektedir (1, 46). Ayrıca nötropenik hastaların, bu bakteri açısından daha güvenli olan karbonatlı suları içmeleri önerilmektedir. Nozokomiyal kolonizasyon/enfeksiyon epidemisi durumunda el hijyeni uygulamalarının ve gerekli durumlarda eldiven kullanımının önemi vurgulanmalıdır (46).

2.3. *S. maltophilia*'nın Antibiyotiklere Direnci

S. maltophilia'da antibiyotiklere direnç, düşük membran permeabilitesi, eflüks pompaları, antibiyotikleri inaktive eden enzimler ve kinolon direnç geni *Smqnr* gibi tüm *S. maltophilia* suşlarında yaygın olan doğal direnç faktörleri ile ilişkili olabilmekte veya mutasyonlar ile ya da direnç genlerinin integron, transpozon ve plazmidler vasıtasıyla horizontal transferi ile kazanılabilmektedir. *S. maltophilia*, beta-laktamlar, kinolonlar, tetrasiklin ve aminoglikozidler içeren yapısal olarak ilişkisiz birçok antibiyotiğe yüksek düzey doğal direnç göstermektedir (5, 7).

2.3.1. Enzimatik mekanizmalar

S. maltophilia'da L1 ve L2 olmak üzere iki adet kromozomal, indüklenebilir beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır (8). Bu kromozomal beta-laktamazlar sayesinde *S. maltophilia* birçok beta-laktam antibiyotiğe kalıtsal olarak dirençlidir (62). L1 enzimi, Ambler sınıf B'de yer alan, Zn^{2+} bağımlı bir metallo-beta-laktamazdır. L2 ise Ambler sınıf A'da yer alan, klavulonata duyarlı bir serin beta-laktamazdır (5, 8). L1 enzimi monobaktamlar hariç tüm beta-laktam antibiyotikleri hidrolize eder. L2 ise monobaktamları ve sefalosporinleri hidrolize eden genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) enzimidir (5, 43). L1 ve L2 beta-laktamazların ekspresyonu, beta-laktamların varlığında indüklenen AmpR tarafından transkripsiyon düzeyinde regüle edilmektedir. AmpR, indükleyici yokluğunda L2 ekspresyonunu zayıf olarak baskımlarken, indükleyici varlığında aktivatör etki göstermektedir. L1'in hem bazal hem de indüklenmiş ekspresyonu için AmpR gereklidir. PBP1a'yı kodlayan *mrcA* ve sitoplazmik N-asetil-muramil-L-alanin amidazı kodlayan *ampD_I* genlerinin inaktivasyonu L1 ve L2 beta-laktamazların aşırı üretimine neden olmaktadır. Ayrıca permeaz sisteminde rol oynayan *ampN-ampG* operonu da L1 ve L2 beta-laktamazların ekspresyonu için esansiyeldir (7, 8, 62). L1 ve L2 beta-laktamazlara ek olarak, klinik izolatlarda TEM-2 penisilinaz (Tn1-benzeri transpozon üzerinde) ve CTX-M-1 beta-laktamaz enzimleri bulunabilmektedir (5).

Aminoglikozid modifiye edici enzimlerin varlığı, *S. maltophilia*'da aminoglikozid direncine yol açan mekanizmalardan biridir. Kromozomal genler tarafından kodlanan aminoglikozid asetiltransferaz AAC(6')-Iz ve aminoglikozid fosfotransferaz APH(3')-IIc enzimleri amikasin, tobramisin, netilmisin, kanamisin ve neomisine azalmış duyarlılıkla ilişkili bulunmuştur (5, 7).

2.3.2. Efluks pompaları

Efluks (dışa atım) pompaları, toksik maddelerin ve antibiyotiklerin bakteri hücrelerinden dış ortama atılmasını sağlayan ve böylece hücre içerisinde yeterli konsantrasyona ulaşmasını engelleyen taşıyıcı proteinlerdir (58, 63). *S. maltophilia*'da efluks pompaları, düşük dış membran geçirgenliği ile birlikte doğal antibiyotik direncinin majör belirleyicisidir (5). Bu pompalar ayrıca kazanılmış dirençte de rol oynamaktadır (7). *S.*

maltoiphilia'da tanımlanan efluks pompaları ve ilişkili antibiyotik direnç fenotipleri Tablo 2.4'te gösterilmiştir.

Tablo 2.4. *S. maltoiphilia*'da doğal ve kazanılmış dirençte rol oynayan efluks pompaları (8).

Efluks pompaları	İlişkili antibiyotik direnci
RND ailesi	
SmeABC	Kinolonlar, beta-laktamlar, aminoglikozidler
SmeDEF	Kinolonlar, tetrasiklinler, makrolidler, kloramfenikol, novobiyosin, trimetoprim-sülfametoksazol
SmeIJK	Siprofloksasin, levofloksasin, tetrasiklin, minosiklin
SmeOP-TolCsm	Trimetoprim-sülfametoksazol, aminoglikozidler, makrolidler, doksisisiklin, kloramfenikol, nalidiksik asit
SmeVWX	Kinolonlar, kloramfenikol, tetrasiklinler
SmeYZ	Trimetoprim-sülfametoksazol, aminoglikozidler
ABC ailesi	
SmrA	Florokinolonlar, tetrasiklin
MacABCsm	Aminoglikozidler, makrolidler, polimiksinler
MFS ailesi	
EmrCABsm	Nalidiksik asit, eritromisin

RND, Resistance-nodulation-cell-division; ABC, ATP binding cassette; MFS, Major facilitator superfamily.

2.3.3. Hedef bölge modifikasyonları

Gram negatif basillerde sülfonamid direnci genellikle, *sul1*, *sul2* ve *sul3* olarak adlandırılan genlerin edinilmesi ile ortaya çıkar. Bu genler, sülfonamidlerce inhibe edilemeyen dihidropteroat sentaz formlarını kodlamaktadır (64). Sınıf 1 integronlar ile taşınan *sul1* geni ve insertion sequence common region (ISCR) elementleri ile ilişkili *sul2* geni, *S. maltophilia*'daki TMP/SMX direncinden sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca sınıf 1 integronlarda yer alan ve trimetoprima dirençli dihidrofolat redüktaz enzimini kodlayan *dfrA* geninin de *S. maltophilia*'da yüksek düzey TMP/SMX direncine yol açtığı bildirilmiştir (8). İntegronlar, gen kasetlerinin eklenmesi, çıkarılması ve ekspresyonu ile bakterilerin değişen çevre koşullarına adaptasyonunu sağlayan genetik elementlerdir (65, 66). Kendi başlarına hareket etme kabiliyetleri yoktur ancak transpozonlar ve plazmidler aracılığıyla bakteri hücreleri arasında hareket edebilirler (6). Gen kasetlerinin eklenmesi ve çıkarılması, integronun 5'-korunmuş bölgesinde bulunan *intI* geni tarafından kodlanan integras enzimi ile katalizlenir. Bu korunmuş segmentte ayrıca rekombinasyon bölgesi olan *attI* ve ekspresyon için gerekli olan promotor bulunur (6, 65). İntegraz yapısına göre farklı sınıflarda integronlar tanımlanmıştır ve çoklu direncin yayılımındaki rolleri nedeniyle sınıf 1, 2 ve 3'te yer alan integronlar tıbbi açıdan en önemli olanlardır (66). Sınıf 1 integronların 3'-korunmuş ucunda, *sul1* geni ve kuarter amonyum bileşiklerini içeren antiseptiklere dirençten sorumlu olan *qacEΔ1* geni bulunmaktadır (6).

Kinolonların hedefi olan topoizomerazlardaki mutasyonlar, tüm bakterilerde temel kinolon direnç mekanizmasını oluşturmaktadır. Ancak *S. maltophilia*'da tanımlanmış bir topoizomeraz mutasyonu bulunmamaktadır. Bu bakterideki kinolon direnci, esas olarak dışa atım pompaları ve kinolon direnç proteini olan SmQnr ile sağlanmaktadır (7). Smqnr geni tarafından kodlanan bu protein, hem doğal hem de kazanılmış dirençte rol oynamaktadır. Etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte topoizomerazları bağlayarak onları kinolonların etkisinden koruduğu düşünülmektedir (7, 8).

2.3.4. Dış membran değişiklikleri

Diğer tüm Gram negatif bakteriler gibi *S. maltophilia* da düşük membran geçirgenliğine sahiptir. Etkin bir bariyer olan dış membranda meydana gelen permeabilite değişikliği

ya da LPS yapısındaki değişiklikler, *S. maltophilia*'nın antibiyotik duyarlılığının değişmesine sebep olmaktadır (7). Dış membran proteinlerindeki mutasyonlar, aminoglikozid ve kinolon direnci ile ilişkili bulunmuştur (3). *S. maltophilia*, farklı sıcaklık derecelerinde LPS yapısındaki fosfat içeriğinde değişiklikler yapabilir ve 30°C'de 37°C'ye göre aminoglikozidlere ve polimiksin B'ye daha yüksek direnç gösterir (5). Fosfoglukomutaz ve fosfomannomutaz aktivitelerine sahip bir enzim olan ve LPS sentezinde rol oynayan SpgM'nin aşırı ekspresyonu, seftazidim, piperasiline-tazobaktam ve tikarsilin-klavulonat direnci ile ilişkili bulunmuştur (6, 36). Ayrıca *spgM* mutant suşlarda polimiksin B, kolistin, nalidiksik asit ve gentamisine duyarlılıkta artış gözlenmiştir (33).

2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) rehberinde disk difüzyon yöntemi ile TMP/SMX, levofloksasin ve minosiklin için duyarlılık değerlendirme kriterleri bulunmaktadır. Ancak sıvı mikrodilüsyon, Etest veya agar dilüsyon öncelikli olarak tercih edilmesi önerilen duyarlılık test yöntemleridir (3). CLSI rehberinde bu üç antibiyotiğe ilave olarak seftazidim, tikarsilin-klavulonat ve kloramfenikol için de minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) sınır değerleri mevcuttur (67). EUCAST dokümanlarında sadece TMP/SMX için sınır değerler tanımlanmıştır ve bu ajanın bakteriyostatik özelliğinden dolayı disk difüzyon veya gradient difüzyon yöntemi kullanıldığında, inhibisyon sınırı değerlendirilirken, kenarlardaki hafif üreme göz ardı edilerek, %80 inhibisyonun dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır. Ayrıca diğer ajanlarla elde edilen duyarlılık sonuçlarının klinik yansımaları destekleyecek yeterli veri bulunmadığı belirtilmektedir (56, 68).

Antibiyotik duyarlılık testleri çalışılırken ve sonuçların rapor edilmesi esnasında *S. maltophilia*'nın doğal direnç paterni dikkate alınmalıdır (56). Doğal direnç bakımından CLSI ve EUCAST rehberleri arasında kısmen farklılıklar bulunmaktadır (Tablo 2.5).

Tablo 2.5. *S. maltophilia*'da doğal antibiyotik direnci (56).

Antibiyotik	CLSI	EUCAST
Amoksisilin-klavulonat	R	R
Tikarsilin-klavulonat	-	-
Piperasilin-tazobaktam	R	R
Seftriakson	R	R
Seftazidim	-	R
Sefepim	-	R
Aztreonam	R	R
Ertapenem	R	R
İmipenem	R	R
Meropenem	R	R
Siprofloksasin	b	-
Aminoglikozidler	R	R
Trimetoprim	R	R
Trimetoprim-sülfametoksazol	-	-
Fosfomisin	R	R
Minosiklin/Tigesiklin	-	-
Kolistin	-	-
Kloramfenikol	-	-

-, doğal direnç yok; b, belirtilmemiş; R, dirençli.

2.5. Moleküler Epidemiyolojik Yöntemler

Moleküler tiplendirme yöntemlerinin geliştirilmesiyle enfeksiyon hastalıklarının epidemiyolojisinde büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu yöntemler ile izolata özgü moleküler parmak izleri elde edilerek epidemiyolojik yakınlık değerlendirilmektedir (69, 70). Moleküler epidemiyolojik çalışmalar ile elde edilen veriler, hastanelerde ve toplumda enfeksiyonun yayılımını anlamak ve kontrol altına almak bakımından oldukça değerlidir. Sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonların önlenmesi için moleküler epidemiyolojik çalışmalar sadece salgın zamanlarında değil, sürekli olarak yapılmalıdır.

Özellikle dirençli mikroorganizmalar hızla tespit edilmeli ve dirençte rol oynayan moleküler mekanizmalar ortaya çıkarılmalıdır (69, 71).

Epidemiyolojik tiplendirme yöntemleri başlıca şu amaçlar için kullanılmaktadır (69):

- 1) Salgın araştırmalarında salgınların kaynağı ve yayılma yolları hakkındaki hipotezlerin test edilmesi,
- 2) Hastaların epidemiyolojik olarak birbirleri ile olan ilişkilerinin belirlenmesi,
- 3) Reaktivasyonun yeni bulaştan ayırt edilmesi,
- 4) Hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonların belirlenmesi,
- 5) Laboratuvar kontaminasyonlarının saptanması,
- 6) Antibiyotik direncinden sorumlu genler hedef alınarak yapılan tipleme ile dirençli suşların tanımı ve yaygınlıklarının belirlenmesi,
- 7) Enfekte popülasyondaki epidemi klonlarının sirkülasyonu ve zaman içindeki prevalansını izleyerek, epidemiyolojik sürveyans ve enfeksiyon kontrol yöntemlerinin değerlendirilmesi.

S. maltophilia enfeksiyonlarının epidemiyolojisinin araştırılmasında pek çok tiplendirme yöntemi kullanılmıştır. Günümüzde, O antijenine dayalı serotiplendirme, LPS tiplendirmesi, biyotiplendirme ve antibiyogramların kıyaslanmasına dayalı tiplendirme gibi fenotipik yöntemlerin yerine, ayırım gücü ve tekrar edilebilirliği daha yüksek olan moleküler yöntemler tercih edilmektedir (3, 15).

Pulsed field jel elektroforezi (PFGE), yüksek ayırım gücü ve iyi tekrar edilebilirliği sayesinde bakteriler için halen altın standart moleküler tiplendirme yöntemidir. Yöntem kısaca, bakteriyel genomun restriksiyon enzimi ile kesim profilinin belirlenmesi esasına dayanmaktadır. PFGE için bozulmamış DNA gerekli olduğundan, DNA'da rastgele kırılmalara yol açabilen standart DNA izolasyon yöntemlerinin kullanılması uygun değildir. Bu amaçla bakteri hücreleri, düşük sıcaklıkta eriyen agarozla karıştırılıp küçük kalıplar içine dökülmektedir. Agaroz kalıp, bakteri hücreleri kimyasal olarak parçalanırken DNA'yı kırılmalara karşı korur. Agaroz içindeki bakteriyel DNA, nispeten az sayıda ve büyük parçalar oluşturan bir restriksiyon enzimi ile kesime (makrorestriksiyon) uğratılmaktadır. Daha sonra içinde kesilmiş DNA parçaları bulunan kalıplar, elektroforez uygulanacak jel içindeki çukurlara yerleştirilmekte ve belirli

aralıklarla yönü değiştirilen elektrik akımına tabi tutulmaktadır. Elektroforez sonunda jel, etidyum bromürle boyanarak her bir izolata ait bant profili görünür hale getirilmektedir (70-72).

Duyarlılığı etkilemesi bakımından PFGE yönteminde kromozomal DNA'nın kesilmesi için seçilecek enzim önemlidir. Mikroorganizmaların DNA içeriğindeki guanin ve sitozin miktarı değişmekte ve buna bağlı olarak kullanılacak optimal restriksiyon enzimi de farklılık göstermektedir. *S. maltophilia* izolatlarının tiplendirilmesinde sıklıkla SpeI ve XbaI enzimleri kullanılmaktadır (3, 70, 73).

PFGE profillerinin analizinde, sıklıkla Tenover ve ark. tarafından önerilen kriterlere başvurulmaktadır. Bu kriterlere göre yedi veya daha fazla sayıda bant farklılığı izlenen izolatlar birbiriyle ilişkisiz olarak kabul edilir (73, 74). Moleküler epidemiyolojik çalışmalarda incelenen izolat sayısı arttıkça bant profillerinin değerlendirilmesi için bilgisayar analizlerine ihtiyaç duyulmaktadır (71). Bilgisayar destekli değerlendirmede, %1-1.5 bant pozisyon toleransı ile ≥ 80 veya ≥ 90 benzerlik gösteren *S. maltophilia* izolatlarını genetik olarak ilişkili kabul eden yaklaşımlar mevcuttur (73).

Yüksek ayırım gücüne rağmen özel ekipman ve tecrübeli personel gereksinimi, yüksek maliyeti ve zaman alıcı bir yöntem olması PFGE'nin dezavantajlarıdır. Bu sebeple *S. maltophilia*'nın genotiplendirilmesinde, repetitive-sequence PCR (rep-PCR) ve randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) gibi ayırım gücü daha düşük ama hızlı sonuç veren PCR temelli yöntemlere de başvurulmaktadır (3, 73).

Arbitrarily primed PCR (AP-PCR) olarak da adlandırılan RAPD yönteminde, bilinen özgül bir DNA bölgesini çoğaltmak yerine, gelişigüzel seçilen bir veya daha fazla primerle DNA'daki birçok bölgenin çoğaltılması amaçlanmaktadır. Aynı tür içindeki farklı suşlarda primerlerin bağlanma yerlerinin sayısı ve birbirine uzaklığı değişik olacağından, agaroz jelde elektroforez sonucunda, farklı sayı ve uzunlukta bantlar oluşmaktadır (75).

rep-PCR yönteminde, *S. maltophilia* da dahil olmak üzere birçok bakteri türünde bulunan ve genom boyunca tekrarlayan DNA sekansları hedef alınır (73). Bu tekrarlayan sekansların PCR ile çoğaltılması sonucunda, suşlar arasında değişen sayı ve boyutlarda bantlar oluşmaktadır. Birçok tekrarlayan element tanımlanmasına karşın en

çok kullanılanları, repetitive extragenic palindromic (REP) elementler, enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) dizileri ve BOX elementleridir (70). REP-PCR, ERIC-PCR ve BOX-PCR yöntemlerinin üçü de *S. maltophilia*'nın tiplendirilmesinde yararlı bulunmuştur (73).

Bu yöntemlere ilave olarak, *S. maltophilia* için uygulanabilir multilocus sequence typing (MLST) protokolü de mevcuttur (73). DNA dizi analizi temelli bir yöntem olan MLST'de, 5-10 adet kromozomal lokustaki varyasyon değerlendirilmekte ve bu şekilde aynı türe ait izolatlar, genetik yakınlık açısından kıyaslanabilmektedir. Tiplendirme yeteneği ve tekrar edilebilirliği yüksek olmasına karşın, pahalı ve zahmetli bir yöntemdir. (70, 76). Daha çok filogenetik ve uzun vadeli küresel epidemiyolojik çalışmalar için tercih edilmektedir (70, 73).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bakterilerin İzolasyonu ve Tanımlanması

Kasım 2013 ile Mart 2015 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi kliniklerinde yatan hastalardan enfeksiyon şüphesi ile Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örnekler kültür için %5 koyun kanlı agar (BBL™, Becton Dickinson, ABD) ve EMB (Oxoid, İngiltere) agara ekildi. Kan kültürü örnekleri, BacTAlert 3D (bioMérieux, Fransa) otomatize kan kültürü sisteminde inkübe edildikten sonra pozitif sinyal saptanan şişelerin pasajı %5 koyun kanlı agar ve EMB agara yapıldı. Çevresel örnekler, triptik soy sıvı besiyeri (Oxoid, İngiltere) içerisinde 37°C'de 48 saat inkübe edildi ve sonrasında %5 koyun kanlı agar ve EMB agara pasajları yapıldı.

Koyun kanlı agar ve EMB agar plaklarının 37°C'de 24-48 saatlik inkübasyonunu takiben saptanan koloniler, Gram boyanma özellikleri, koloni morfolojisi, oksidaz ve katalaz reaksiyonuna göre incelendi. Saf kültür halinde elde edilen mikroorganizmalar, konvansiyonel yöntemlere ilaveten Phoenix ID (Becton Dickinson, ABD) otomatize identifikasyon sistemi ile tür düzeyinde tanımlandı. Her hastanın tek bir *S. maltophilia* izolatu çalışmaya alındı. İzolasyon sonrası bakteriler, tekrar çalışılıncaya kadar Microbank™ (Pro-Lab Diagnostics, ABD) içinde -80°C'de muhafaza edildi.

3.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

S. maltophilia izolatlarının seftazidim ve levofloksasine duyarlılığının belirlenmesinde sıvı mikrodilüsyon yöntemi; TMP/SMX'e duyarlılığının belirlenmesinde ise Etest (gradient difüzyon) yöntemi kullanıldı.

3.2.1. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi CLSI önerileri doğrultusunda katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyeri (MHSB) içinde antibiyotiklerin iki kat konsantrasyonları hazırlanarak yapıldı. Son inokulum konsantrasyonu 5×10^5 CFU/mL olacak şekilde bakteri süspansiyonu inoküle edildi. 35°C'de 20 saat inkübasyon sonrası gözle görülür üremenin durduğu en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak belirlendi.

3.2.1.1. MHSB'nin hazırlanması

- 1) Ticari toz besiyerinden üretici firmanın (Oxoid, İngiltere) talimatları doğrultusunda hazırlandı.
- 2) Otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi.

3.2.1.2. Antibiyotik stok solüsyonlarının hazırlanması

- 1) Kullanılan antibiyotik tozları ve potensleri Tablo 3.21'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan antibiyotik tozları ve potensleri.

Antibiyotikler	Potens (µg/mg)
Levofloksasin (Aventis Pasteur, Almanya)	1000
Seftazidim (European Pharmacopoeia Reference Standard, Fransa)	1000

- 2) Antibiyotiklerin stok solüsyonları aşağıdaki formüle göre hazırlandı (77):

$$\text{Ağırlık (mg)} = \frac{\text{Volüm (mL)} \times \text{Konsantrasyon (µg/mL)}}{\text{Antibiyotik potensi (µg/mg)}}$$

- 3) Antibakteriyel maddenin stok solüsyonunun hazırlanmasında ve dilüsyonunda kullanılan çözücü ve sulandırıcılar Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Antibiyotik tozlarının çözücü ve sulandırıcıları (67).

Antibiyotikler	Çözücü	Sulandırıcı
Levofloksasin	1/2 volüm suya çözülene kadar damla damla 0.1 mol/L NaOH ilave edilir	Steril saf su
Seftazidim	Sodyum karbonat	Steril saf su

- 4) Antibiyotiklerin 0.06 µg/mL'den 128 µg/mL'ye kadar 12 ayrı konsantrasyonu hazırlandı.

3.2.1.3. Bakteri inokülumu

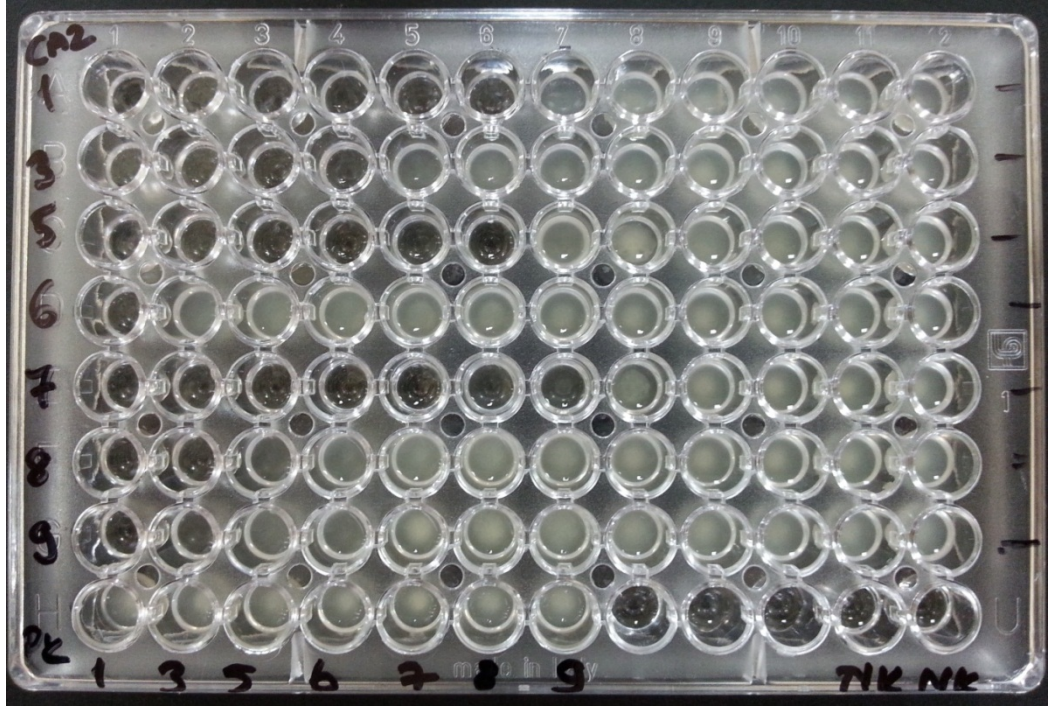
- 1) İnokulum, 24 saatlik koyun kanlı agar kültüründen, MHSB içerisinde 0.5 McFarland standart bulanıklıkta olacak şekilde, doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi kullanılarak hazırlandı.
- 2) Bu süspansiyon, MHSB ile 1/100 oranında dilüe edilerek, 10^6 CFU/mL konsantrasyonu elde edildi.

3.2.1.4. Testin yapılışı

- 1) Steril U tabanlı 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plakları kullanıldı.
- 2) Her bir kuyucuğa 50 µl MHSB konuldu.
- 3) İlk kuyucuklara antibiyotik stok solüsyonundan 50 µl konularak son kuyucuğa kadar dilüsyonları yapıldı.
- 4) Hazırlanan bakteri süspansiyonundan her bir kuyucuğa 50 µl inoküle edildi. Böylece kuyucuklardaki son inokulum konsantrasyonu 5×10^5 CFU/mL olarak belirlendi.
- 5) Her bir izolat için, antibiyotik içermeyen kuyucuklarda inokulum kontrolü ve her plakta iki kuyucukta besiyerinin sterilit kontrolü yapıldı (Şekil 3.1).
- 6) *P. aeruginosa* ATCC® 27853 suşu kalite kontrol amaçlı kullanıldı.
- 7) Plaklar 35°C'de 20 saat inkübe edildi.

3.2.1.5. Değerlendirme ve yorum

Üremenin görülmediği en düşük konsantrasyon, o antibiyotik için MİK olarak kaydedildi. *S. maltophilia* için CLSI kılavuzunda yer alan levofloksasin ve seftazidim sınır değerleri Tablo 3.3'te ve standart kontrol suşu için bildirilen MİK değerleri Tablo 3.4'te gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Sıvı mikrodilüsyon testi.

3.2.2. Etest (gradient difüzyon) yöntemi

Üretici firmanın (bioMérieux, Fransa) önerileri doğrultusunda katyon ayarlı Mueller-Hinton agar (MHA) besiyerinde çalışıldı.

3.2.2.1. MHA'nın hazırlanması

- 1) Ticari toz besiyerinden üretici firmanın (Merck, Almanya) talimatları doğrultusunda hazırlandı.
- 2) Otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi.
- 3) 55°C'ye kadar soğuduktan sonra steril petri kaplarına 4 mm kalınlıkta olacak şekilde dökülüp katılaşmaya bırakıldı.

3.2.2.2. Bakteri inokulumu

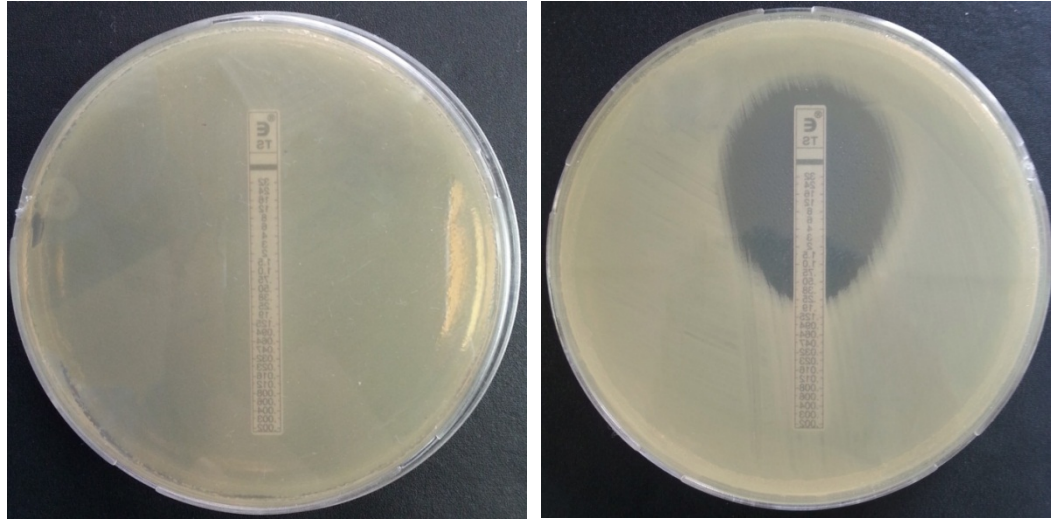
İnokulum, 24 saatlik koyun kanlı agar kültüründen, salin içerisinde 0.5 McFarland standart bulanıklıkta olacak şekilde, doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi ile hazırlandı.

3.2.2.3. Testin yapılışı

- 1) Steril cam tüp içinde hazırlanan bakteri süspansiyonuna steril pamuklu eküvyon batırıldı ve tüp kenarına bastırılarak pamuğun fazla sıvıyı bırakması sağlandı.
- 2) Eküvyonla alınan inokulum, tüm agar yüzeyine yaklaşık 60 derecelik açılarla plak çevrilerek yayıldı.
- 3) Stripler yerleştirilmeden önce sıvının absorbe olması için 3-5 dakika beklendi.
- 4) Kullanılmadan önce oda sıcaklığına gelmesi beklenen Etest stripleri paketinden çıkarılıp, aplikatör yardımıyla besiyeri üzerine yerleştirildi. Striplerin yerleştirilmesi işlemi, inokulum MHA üzerine yayıldıktan sonra en geç 15 dakika içinde tamamlandı.
- 5) *E. coli* ATCC® 25922 suşu kalite kontrol amaçlı kullanıldı.
- 6) Petriler 35°C’de 20 saat inkübe edildi.

3.2.2.4. Değerlendirme ve yorum

Plaklar, koyu renk bir zemin üzerinde, aydınlık ortamda değerlendirildi. Zayıf üreme göz ardı edilerek, inhibisyon zonunun Etest şeridine temas ettiği konsantrasyon MİK olarak belirlendi. *S. maltophilia* için CLSI kılavuzunda yer alan TMP/SMX sınır değerleri Tablo 3.3’te ve standart kontrol suşu için bildirilen MİK değeri Tablo 3.4’te gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Etest yöntemi.

Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin *S. maltophilia* için MİK sınır değerleri (67).

Antibiyotik Adı	MİK sınır değerleri (µg/mL)		
	Duyarlı	Orta Derecede Duyarlı	Dirençli
TMP/SMX	$\leq 2/38$	-	$\geq 4/76$
Levofloksasin	≤ 2	4	≥ 8
Seftazidim	≤ 8	16	≥ 32

Tablo 3.4. Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin standart kontrol suşları için MİK aralıkları (67).

Antibiyotik Adı	Standart Kontrol Suşu	MİK aralığı (µg/mL)
TMP/SMX	<i>E. coli</i> ATCC® 25922	$\leq 0.5/9.5$
Levofloksasin	<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 27853	0.5-4
Seftazidim	<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 27853	1-4

3.3. İntegron ilişkili *intI* ve *sul* Genlerinin Varlığının Araştırılması

3.3.1. *S. maltophilia* izolatlarından DNA ekstraksiyonu

Çalışmada, -80°C’de muhafaza edilen bakteri stoklarından yapılan pasajlar ile MHA’da saf kültür şeklinde üreyen izolatlardan, PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen,

ABD) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Elde edilen DNA kullanılabildiği kadar -20°C’de saklandı.

3.3.2. Çalışmada kullanılan primer dizileri

intI1, *intI2*, *intI3*, *sul1*, *sul2* ve *sul3* gen bölgelerinin PCR ile araştırılmasında kullanılan liyofilize haldeki primerler (IDT, ABD) kullanım öncesinde nükleaz içermeyen steril dH₂O ile sulandırıldı. Kullanılan primer dizileri Tablo 3.5’te gösterilmiştir.

Tablo 3.5. PCR’da kullanılan primer dizileri (78-80).

Gen	Primer	Baz dizisi	Amplikon büyüklüğü
<i>intI1</i>	intI1-F	5'-CAGTGGACATAAGCCTGTTC-3'	160 bp
	intI1-R	5'-CCCGAGGCATAGACTGTA-3'	
<i>intI2</i>	intI2-F	5'-CACGGATATGCGACAAAAAGGT-3'	788 bp
	intI2-R	5'-GATGACAACGAGTGACGAAATG-3'	
<i>intI3</i>	intI3-F	5'-GCCTCCGGCAGCGACTTTCAG-3'	979 bp
	intI3-R	5'-ACGGATCTGCCAAACCTGACT-3'	
<i>sul1</i>	sul1-F	5'-CGGCGTGGGCTACCTGAACG-3'	433 bp
	sul1-R	5'-GCCGATCGCGTGAAGTTCCG-3'	
<i>sul2</i>	sul2-F	5'-GCGCTCAAGGCAGATGGCATT-3'	293 bp
	sul2-R	5'-GCGTTTGATACCGGCACCCGT-3'	
<i>sul3</i>	sul3-F	5'-GAGCAAGATTTTTGGAATCG-3'	750 bp
	sul3-R	5'-CTAACCTAGGGCTTTGGATAT-3'	

3.3.3. PCR karışımı ve amplifikasyon koşulları

PCR için AmpliTaq Gold® 360 Master Mix (Applied Biosystems, ABD) karışımı ve Labcycler (SensoQuest, Almanya) cihazı kullanıldı. Reaksiyon karışımları PCR kabini içerisinde, soğuk bloklar kullanılarak hazırlandı. Pozitif kontrol olarak *intI1*, *intI2*, *sul1*, *sul2* ve *sul3* gen bölgelerini içerdiği dizi analizi ile doğrulanmış suşlara ait DNA’lar (Yrd. Doç. Dr. Aycan Gündoğdu’dan temin edildi); negatif kontrol olarak ise reaksiyon karışımlarının hazırlanmasında kullanılan dH₂O kullanıldı.

3.3.3.1. İntegron ilişkili *intI1*, *intI2* ve *intI3* genlerinin araştırılması

- 1) Tüm *S. maltophilia* izolatları üç farklı sınıftaki integron için integron ilişkili integras genleri açısından Tablo 3.6’da gösterilen multipleks PCR karışımı hazırlanarak tarandı.

Tablo 3.6. İntegron ilişkili *intI* genlerinin saptanması için kullanılan PCR karışımı.

Komponent		Volüm (µL)
Master Mix		25
Primerler (20 pmol/µL)	intI1-F	0.5
	intI1-R	0.5
	intI2-F	0.5
	intI2-R	0.5
	intI3-F	0.5
	intI3-R	0.5
DNA		3
Nükleaz içermeyen steril dH ₂ O		14
Total reaksiyon hacmi		45

- 2) Hazırlanan reaksiyon karışımı Tablo 3.7’de tarif edilen koşullarda amplifiye edildi.

Tablo 3.7. İntegron ilişkili integras genlerinin amplifikasyonu için uygulanan PCR protokolü.

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	94	4 dakika	1
Denatürasyon	94	1 dakika	35
Bağlanma	56	1 dakika	
Uzama	72	1 dakika	
Son uzama	72	10 dakika	1
Bekleme	4	∞	1

3.3.3.2. *sul1* ve *sul2* genlerinin araştırılması

- 1) Tüm *S. maltophilia* izolatları *sul1* ve *sul2* direnç genlerinin varlığı açısından Tablo 3.8’de tarif edilen multipleks PCR karışımı hazırlanarak tarandı.

Tablo 3.8. *sul1* ve *sul2* direnç genlerinin saptanmasında kullanılan PCR karışımı.

Komponent		Volüm (µL)
Master Mix		25
Primerler (10 pmol/µL)	sul1-F	0.5
	sul1-R	0.5
	sul2-F	0.5
	sul2-R	0.5
DNA		3
Nükleaz içermeyen steril dH ₂ O		15
Total reaksiyon hacmi		45

- 2) Hazırlanan reaksiyon karışımı Tablo 3.9’da tarif edilen koşullarda amplifiye edildi.

Tablo 3.9. *sul1* ve *sul2* gen bölgelerinin amplifikasyonu için uygulanan PCR protokolü.

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95	6 dakika	1
Denatürasyon	95	30 saniye	37
Bağlanma	62	45 saniye	
Uzama	72	1 dakika	
Son uzama	72	7 dakika	1
Bekleme	4	∞	1

3.3.3.3. *sul3* geninin araştırılması

- 1) Tüm *S. maltophilia* izolatlarında *sul3* direnç geninin varlığı Tablo 3.10’da tarif edilen PCR karışımı hazırlanarak araştırıldı.

Tablo 3.10. *sul3* direnç geninin saptanmasında kullanılan PCR karışımı.

Komponent		Volüm (µL)
Master Mix		12.5
Primerler (10 pmol/µL)	sul3-F	0.5
	sul3-R	0.5
DNA		2
Nükleaz içermeyen steril dH ₂ O		14.5
Total reaksiyon hacmi		30

- 2) Hazırlanan reaksiyon karışımı Tablo 3.11’de tarif edilen koşullarda amplifiye edildi.

Tablo 3.11. *sul3* gen bölgesinin amplifikasyonu için uygulanan PCR protokolü.

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95	5 dakika	1
Denatürasyon	95	40 saniye	35
Bağlanma	62	40 saniye	
Uzama	72	1 dakika	
Son uzama	72	5 dakika	1
Bekleme	4	∞	1

3.3.4. Agaroz jel elektroforezi

- 1) Agaroz jel elektroforezi için %1.5'lik jel hazırlandı. Bu amaçla 6 g agaroz (AppliChem, Almanya) tartılıp 400 mL 1× Tris-borik asit-EDTA (TBE) tamponu (89 mM Tris, 89 mM borik asit, 2 mM EDTA, pH 8.3) içinde mikrodalga fırında ısıtılarak tamamen erimesi sağlandı.
- 2) 55°C'ye kadar soğuması beklendikten sonra içine 10 mg/mL konsantrasyondaki etidyum bromür solüsyonundan (Invitrogen, ABD) 20 µL eklenerek karışması sağlandı (son konsantrasyon: 0.5 µg/mL).
- 3) Akışkan haldeki sıcak jel, tarak yerleştirilmiş tepsiye dökülerek katılaşması bekledi.
- 4) Katılaştıktan sonra yatay elektroforez tankına (Thermo Scientific, ABD) tepsi ile yerleştirildi. Tanka, jelin üzerini kaplayacak şekilde 1× TBE tamponu döküldü ve jelin içindeki tarak çıkarıldı.
- 5) Moleküler ağırlık belirleyicisi olarak ilk kuyucuğa 1 µL 100 bp DNA Ladder (Invitrogen, ABD) yüklendi.
- 6) PCR ürünlerinden 10 µL alınıp, 2.5 µL 10× konsantrasyondaki BlueJuice™ Gel Loading Buffer (Invitrogen, ABD) ile karıştırılıp geri kalan kuyucuklara yüklendi.
- 7) Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra güç kaynağının elektrotları tanka bağlandı ve 160 V lineer elektrik akımında 45 dakika boyunca elektroforez işlemi gerçekleştirildi.

3.3.5. Değerlendirme ve yorum

Elektroforez işlemine son verildikten sonra jel, UV transillüminatörde (Vilber Lourmat, Almanya) incelendi. Kontaminasyon açısından negatif kontrolde bant oluşmamasına; PCR protokolünün yeterliliği açısından da pozitif kontrollerde beklenen büyüklükte ve yeterli parlaklıkta bant oluşmasına dikkat edildi.

3.4. PCR İle Çoğaltılan Gen Bölgelerinin Dizi Analizi İle Doğrulanması

PCR ile pozitif bant saptanan izolatlar için PCR ürünlerinin DNA dizi analizi MedSanTek Laboratuvarı, İstanbul'da yapıldı.

3.4.1. PCR ürünlerinin saflaştırılması

- 1) 5 µL PCR ürünü üzerine 2 µL ExoSAP-IT® (Affymetrix, ABD) reaktifi eklendi.
- 2) 37°C’de 30 dakika ve 80°C’de 15 dakika inkübe edilerek örnekler dizi reaksiyonuna hazır hale getirildi.

3.4.2. Döngüsel dizileme reaksiyonu

- 1) Saflaştırılmış PCR ürünlerinin döngüsel dizileme reaksiyonunda BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, ABD) kullanıldı. Kullanılan reaktiflerin hacimleri Tablo 3.12’de gösterilmiştir.
- 2) Her örnek için ileri ve geri primerler kullanılarak iki ayrı döngüsel dizileme yapıldı.

Tablo 3.12. Döngüsel dizilemede kullanılan reaktifler ve hacimleri.

Komponent	Volüm (µL)
Premix	4
Dizileme tamponu	4
Primer (10 pmol/µL)	2
DNA	5
Nükleaz içermeyen steril dH ₂ O	5
Total reaksiyon hacmi	20

- 3) Hazırlanan reaksiyon karışımı Tablo 3.13’te tarif edilen koşullarda Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems, ABD) cihazında amplifiye edildi.

Tablo 3.13. Döngüsel dizileme reaksiyonunda uygulanan PCR protokolü.

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	96	1 dakika	1
Denatürasyon	96	10 saniye	25
Bağlanma	50	5 saniye	
Uzama	60	4 dakika	
Bekleme	4	∞	1

3.4.3. Döngüsel dizileme reaksiyonu sonrası saflaştırma

Saflaştırma için etanol/EDTA/sodyum asetat ile çöktürme yöntemi kullanıldı.

- 1) Döngüsel dizileme ürünlerini içeren her mikrosantrifüj tüpüne sırasıyla 2 µL 125 mM EDTA, 2 µL 3 M sodyum asetat ve 50 µl %100'lük etanol eklenip karıştırıldı.
- 2) Mikrosantrifüj tüpleri 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- 3) 2000-3000×g'de 45 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant atıldı.
- 4) 70 µL %70'lik etanol eklendi ve 4°C'ye soğutulmuş santrifüjde 1650×g'de örnekler 15 dakika santrifüjlendi.
- 5) Süpernatant atılıp örnekler 185×g'de 1 dakika santrifüjlendi.

3.4.4. Otomatik dizi analizi cihazına yükleme

Saflaştırılmış örnekler, kapiller sistemli otomatik dizi analizi cihazı olan ABI 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ABD) cihazında sekanslandı.

- 1) Örneklerin üzerine 15 µL formamid eklenerek pipetaj yapıldı.
- 2) Daha sonra örnekler dizi analizi cihazı ile uyumlu 96 kuyucuklu reaksiyon plağına aktarıldı.
- 3) Plak, plastik septa kapak ile kapatılıp örneklerin denatüre olması için 5 dakika 95°C'de bekletildikten sonra 5 dakika buz üzerinde bekletildi.
- 4) Plak, ABI 3500xL Genetic Analyzer cihazına yüklendi ve dizi analizi yapıldı.

3.4.5. Değerlendirme ve yorum

Elde edilen DNA dizi analizi sonuçları NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanında bulunan dizilerle BLAST® sekans analiz aracı kullanılarak değerlendirildi (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

3.5. *S. maltophilia* İzolatlarının PFGE Yöntemi İle Genotiplendirilmesi

Çalışmadaki *S. maltophilia* izolatlarının genotiplendirmesinde PFGE yöntemi kullanıldı. PFGE çalışması Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK), Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.5.1. Bakteri kalıplarının hazırlanması

- 1) Test edilecek izolatlar MHA'a ekilerek bir gecelik inkübasyon sonrasında saf kültür olarak çoğaltıldı.
- 2) İzolatlar, tek kullanımlık steril plastik özeler ile alındı ve yuvarlak tabanlı cam tüplerde, 2.5 mL hücre süspansiyon tamponu (HST) (100 mM Tris, 100 mM EDTA, pH 8.0) içinde, 4 McFarland standart bulanıklığa eşdeğer bakteri süspansiyonları hazırlandı.
- 3) Hazırlanan bakteri süspansiyonlarından 1000 µL alınıp 1.5 mL'lik mikrosantrifüj tüpleri içerisinde 15000×g'de 2 dakika santrifüjlendi.
- 4) Pellet miktarı göz ile kontrol edildi ve gerekli görüldüğünde üzerine bakteri süspansiyonu eklenerek santrifüj işlemi tekrarlandı.
- 5) Süpernatant döküldükten sonra pellet üzerine 1000 µL HST eklenip pipetaj yapılarak karışması sağlandı.
- 6) 25 µL proteinaz K (20 mg/mL'lik) (Thermo Fisher Scientific, ABD) eklenip tüpler hafifçe çevrilerek karışması sağlandı.
- 7) %1 oranında sodyum dodesil sülfat (SDS) içeren %1'lik "low melt" (düşük sıcaklıkta eriyen) agaroz (Bio-Rad, ABD) hazırlandı.
- 8) Isıtıcı blok içerisine dizilmiş mikrosantrifüj tüpleri içerisinde eşit miktarda hücre süspansiyonu ile agaroz karıştırılıp hızla kalıpların (Bio-Rad Laboratories, Almanya) içerisine dolduruldu.
- 9) Oda sıcaklığında 5 dakika ve sonrasında 4°C'de 5 dakika bekletilerek katılaşması sağlandı.

3.5.2. Kalıplardaki hücrelerin lizisi ve yıkama

- 1) Katılaşan agaroz kalıplar, içerisinde 5'er mL hücre lizis tamponu (50 mM Tris, 50 mM EDTA [pH 8.0], %1 sarcosine) ve 25 µL proteinaz K (20 mg/mL'lik) içeren vidalı kapaklı tüplere aktarıldı.
- 2) Lizis işlemi 55°C'ye ayarlanmış çalkalamalı su banyosunda 2 saat süre ile gerçekleştirildi.
- 3) Lizis sonrası tampon dikkatlice dökülüp tüplere önceden 50-55°C'ye kadar ısıtılmış 10 mL steril ultra saf su dolduruldu ve 55°C'deki çalkalamalı su banyosunda 15 dakika boyunca yıkama yapıldı.

- 4) Aynı işlem bir kez daha ultra saf su ile yapıldıktan sonra üç kez TE tamponu (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0) kullanılarak tekrar edildi.
- 5) Son yıkamadan sonra TE tamponu dökülerek yerine oda sıcaklığındaki taze TE tamponundan 10 mL eklendi.
- 6) Aynı gün kullanılamayacak kalıplar 4°C’de saklandı.

3.5.3. Restriksiyon enzimi ile kesim

- 1) Her kalıptan bisturi ile 4×5.5 mm ebatlarında bir parça kesildi.
- 2) Kesilen parçalar, içerisinde 100 µL restriksiyon tamponu (FastDigest®, Fermentas, Litvanya) bulunan mikrosantrifüj tüplerine konuldu ve 37°C’ye ayarlı etüvde 10 dakika bekletildi.
- 3) Tüpler etüvden çıkarılıp içlerindeki restriksiyon tamponu mikropipet ile çekildi.
- 4) Her bir tüpe, restriksiyon enzimi olarak 2.5 µL SpeI (FastDigest®, Fermentas, Litvanya), 10 µL restriksiyon tamponu ve 87.5 µL nükleaz içermeyen steril dH₂O karışımı eklendi ve 37°C’de bir saat boyunca inkübe edildi.
- 5) İnkübasyon sonunda tüplerin içindeki restriksiyon karışımı mikropipet ile çekildi.

3.5.4. Agaroz jel elektroforezi

- 1) Elektroforez için %1’lik agaroz jel hazırlandı. Bu amaçla 1 g PFGE-grade agaroz (Amresco, ABD), 100 mL 0.5× TBE tamponu (44.5 mM Tris, 44.5 mM borik asit, 1 mM EDTA, pH 8.3) içerisine karıştırıldı ve mikrodalga fırında ısıtılarak tamamen erimesi sağlandı.
- 2) Restriksiyon enzimi ile kesim işlemi tamamlanmış DNA kalıpları, tepsi üzerinde yatay konumdaki tıraşın dişleri üzerine yerleştirildi.
- 3) Değerlendirme aşamasında normalizasyon amacıyla kullanılmak üzere, THSK kültür koleksiyonundan alınmış ve tür tanımlaması *S. maltophilia* olarak yapılmış suşa ait kalıplar ilk, orta ve son dişlere yerleştirildi.
- 4) Tarak dikkatli bir şekilde dik konuma getirildi ve sıcaklığı 50°C’ye kadar düşmüş olan PFGE grade agaroz tepsiye dökülüp katılaşmaya bırakıldı.
- 5) Elektroforez için CHEF DRII sistemi (Bio-Rad Laboratories, Belçika) kullanıldı. Tank, 2000 mL 0.5× TBE tamponu ile doldurulup sıcaklık 14°C’ye ayarlandı.

- 6) Jel katılaştıktan sonra tankın içine yerleştirildi ve Tablo 3.14'te gösterilen koşullarda elektroforez gerçekleştirildi.
- 7) Elektroforez sonunda jel, 300 mL etidyum bromür solüsyonunda (1 µg/mL) 30 dakika bekletilerek boyanması sağlandı.
- 8) Jel daha sonra distile su içerisinde 45 dakika bekletildi ve görüntüleme işlemine geçildi.

Tablo 3.14. PFGE analizi için CHEF DRII sisteminde uygulanan elektroforez koşulları.

	Başlangıç vuruş süresi	Bitiş vuruş süresi	Vuruş açısı	Voltaaj	Süre
1. blok	5 saniye	30 saniye	120°	6 V/cm	16 saat
2. blok	1 saniye	5 saniye	120°	6 V/cm	4 saat

3.5.5. Değerlendirme ve yorum

- 1) Jelin görüntülenmesinde Gel Logic 2200 Imaging System (Kodak, ABD) kullanıldı.
- 2) Fotoğrafi çekilen DNA bant görüntüleri TIFF formatında kaydedildi.
- 3) BioNumerics yazılım paketi versiyon 7.5 (Applied Maths, Belçika) kullanılarak bant profilleri analiz edildi.
- 4) Normalizasyonda ilk, orta ve son kuyucuklarda bulunan standart suşa ait görüntülerden yararlanıldı.
- 5) Görsel kıyaslamada Tenover ve ark. (74) tarafından önerilen kriterler kullanıldı.
- 6) Bilgisayar yazılımı yardımıyla yapılan değerlendirmede; UPGMA (Unweighted pair group method with mathematical averaging; matematiksel ortalamayla ağırlıksız çiftlerin gruplandırılması yöntemi) algoritması kullanılarak küme analizi yapıldı ve Dice katsayısı kullanılarak, %1.5 tolerans ve %1 optimizasyonla DNA'lar arasındaki ilişki belirlendi.
- 7) Buna göre %100 benzerlik gösteren izolatlar ayırt edilemez, %95-99 arasında benzerlik gösterenler yakın ilişkili, %90-94 arasında benzerlik gösterenler ilişkili, %85-89 arasında benzerlik gösterenler muhtemel ilişkili olarak değerlendirildi.

≥ 90 benzerlik gösteren izolatlar aynı klon olarak kabul edildi ve bir harf ile isimlendirildi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde iki oran Z testi ve Fisher'in kesin χ^2 testi kullanıldı. p değerinin <0.05 bulunması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. *S. maltophilia* İzolatları

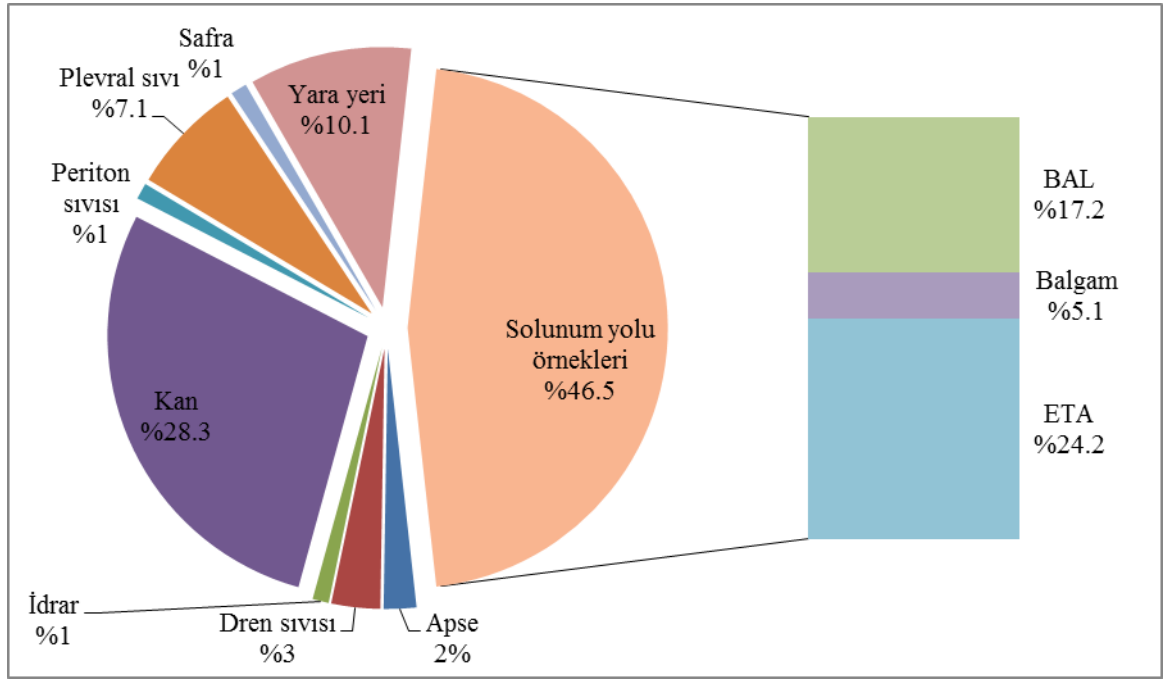
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi kliniklerinde takip edilmekte olan hastaların klinik örneklerinden izole edilen 99 *S. maltophilia* izolatı çalışmaya alınmıştır. İzolatların %47.5'i yoğun bakım kliniklerinde yatmakta olan hastalardan izole edilirken, %35.4'ü dahili ve %17.1'i cerrahi kliniklerdeki hastalardan izole edilmiştir. *S. maltophilia* izole edilen hastaların kliniklere göre dağılımı Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

İzolatların örnek türlerine göre dağılımı incelendiğinde; örneklerin % 46.5'ini solunum yolu numunelerinin oluşturduğu ve tüm örnekler içerisinde *S. maltophilia*'nın en fazla izole edildiği örnek grubu olduğu görülmüştür. Kan örnekleri ise %28.3 ile *S. maltophilia*'nın ikinci sıklıkta izole edildiği numune olmuştur. İzolatların klinik örneklerle göre dağılımı Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. *S. maltophilia* izole edilen hastaların kliniklere göre dağılımı.

	Sayı (%)
Yoğun Bakım Klinikleri	47 (47.5)
Dahiliye YBÜ	22 (22.2)
Göğüs Hastalıkları YBÜ	7 (7.1)
Anestezi YBÜ	6 (6.1)
Pediyatri YBÜ	5 (5.1)
Yeni Doğan YBÜ	3 (3)
Genel Cerrahi YBÜ	2 (2)
Beyin Cerrahisi YBÜ	1 (1)
Göğüs Cerrahisi YBÜ	1 (1)
Dahili Klinikler	35 (35.4)
Göğüs Hastalıkları Servisi	7 (7.1)
Hematoloji Servisi	7 (7.1)
Medikal Onkoloji Servisi	6 (6.1)
İntaniye Servisi	5 (5.1)
Gastroenteroloji Servisi	4 (4)
Nefroloji Servisi	3 (3)
Pediyatri Adolesan Servisi	1 (1)
Pediyatri Hematoloji-Onkoloji Servisi	1 (1)
Pediyatri İntaniye Servisi	1 (1)
Cerrahi Klinikler	17 (17.1)
Göğüs Cerrahisi Servisi	14 (14.1)
Genel Cerrahi Servisi	2 (2)
Jinekoloji Servisi	1 (1)
Toplam	99 (100)

YBÜ, yoğun bakım ünitesi.



BAL, bronkoalveoler lavaj; ETA, endotrakeal aspirat.

Şekil 4.1. *S. maltophilia* izolatlarının klinik örneklere göre dağılımı.

4.2. Antimikrobiyal Duyarlılık Profilleri

Çalışma kapsamında test edilen 99 *S. maltophilia* izolatının %90.9'u TMP/SMX'e, %91.9'u levofloksasine ve %53.5'i seftazidime duyarlı bulunmuştur. İzolatların antibiyotiklere duyarlılık durumları Tablo 4.2'de ve Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.2. *S. maltophilia* izolatlarında test edilen antibiyotiklerin MİK değerleri.

İzolat	TMP/SMX		Levofloksasin		Seftazidim	
	MİK (µg/mL)	Yorum	MİK (µg/mL)	Yorum	MİK (µg/mL)	Yorum
SM1	0.5/9.5	S	0.25	S	2	S
SM2	>32/608	R	2	S	1	S
SM3	0.25/4.75	S	2	S	4	S
SM4	0.25/4.75	S	2	S	128	R
SM5	0.125/2.375	S	0.25	S	4	S
SM6	0.25/4.75	S	0.5	S	16	I
SM7	0.25/4.75	S	2	S	16	I
SM8	0.25/4.75	S	1	S	32	R
SM9	0.25/4.75	S	2	S	8	S
SM10	0.25/4.75	S	1	S	16	I
SM11	0.25/4.75	S	0.125	S	1	S
SM12	0.25/4.75	S	1	S	4	S
SM13	0.25/4.75	S	1	S	128	R
SM14	0.125/2.375	S	0.5	S	4	S
SM15	0.125/2.375	S	0.5	S	32	R
SM16	0.25/4.75	S	0.25	S	8	S
SM17	0.25/4.75	S	0.5	S	8	S
SM18	0.125/2.375	S	1	S	2	S
SM19	0.125/2.375	S	2	S	8	S
SM20	0.125/2.375	S	0.5	S	64	R
SM21	0.125/2.375	S	2	S	16	I
SM22	0.125/2.375	S	2	S	16	I
SM23	0.25/4.75	S	2	S	128	R
SM24	>32/608	R	0.125	S	8	S
SM25	0.25/4.75	S	1	S	32	R
SM26	0.25/4.75	S	0.5	S	128	R
SM27	0.25/4.75	S	1	S	32	R
SM28	0.25/4.75	S	0.5	S	128	R
SM29	0.25/4.75	S	2	S	2	S
SM30	0.25/4.75	S	0.25	S	>128	R
SM31	0.25/4.75	S	1	S	32	R
SM32	0.125/2.375	S	1	S	32	R
SM33	8/152	R	0.5	S	32	R
SM34	>32/608	R	2	S	4	S
SM35	0.25/4.75	S	1	S	8	S
SM36	0.25/4.75	S	1	S	16	I
SM37	0.125/2.375	S	0.25	S	4	S
SM38	0.25/4.75	S	1	S	64	R
SM39	1/19	S	8	R	8	S
SM40	>32/608	R	0.5	S	4	S
SM41	0.25/4.75	S	0.5	S	>128	R
SM42	0.25/4.75	S	2	S	>128	R
SM43	>32/608	R	0.25	S	2	S
SM44	0.25/4.75	S	16	R	4	S
SM45	0.125/2.375	S	2	S	16	I
SM46	>32/608	R	0.5	S	2	S
SM47	0.25/4.75	S	0.125	S	2	S
SM48	0.5/9.5	S	4	I	8	S
SM49	0.25/4.75	S	2	S	16	I
SM50	0.5/9.5	S	1	S	128	R
SM51	0.5/9.5	S	0.25	S	4	S

Tablo 4.2. *S. maltophilia* izolatlarında test edilen antibiyotiklerin MİK değerleri (devamı).

İzolat	TMP/SMX		Levofloksasin		Seftazidim	
	MİK (µg/mL)	Yorum	MİK (µg/mL)	Yorum	MİK (µg/mL)	Yorum
SM52	0.25/4.75	S	4	I	4	S
SM53	0.25/4.75	S	<0.06	S	2	S
SM54	0.25/4.75	S	2	S	16	I
SM55	0.25/4.75	S	1	S	8	S
SM56	0.125/2.375	S	0.5	S	8	S
SM57	0.25/4.75	S	1	S	64	R
SM58	0.25/4.75	S	2	S	8	S
SM59	0.125/2.375	S	1	S	>128	R
SM60	0.25/4.75	S	2	S	4	S
SM61	0.25/4.75	S	0.5	S	2	S
SM62	0.25/4.75	S	2	S	128	R
SM63	0.125/2.375	S	1	S	>128	R
SM64	0.5/9.5	S	4	I	2	S
SM65	2/38	S	2	S	16	I
SM66	>32/608	R	0.125	S	2	S
SM67	0.5/9.5	S	16	R	16	I
SM68	0.25/4.75	S	0.25	S	64	R
SM69	0.25/4.75	S	0.5	S	64	R
SM70	0.5/9.5	S	0.25	S	1	S
SM71	>32/608	R	4	I	8	S
SM72	0.25/4.75	S	1	S	>128	R
SM73	0.5/9.5	S	2	S	128	R
SM74	0.5/9.5	S	0.125	S	2	S
SM75	0.25/4.75	S	<0.06	S	1	S
SM76	0.25/4.75	S	2	S	4	S
SM77	0.5/9.5	S	0.5	S	128	R
SM78	0.25/4.75	S	1	S	8	S
SM79	0.125/2.375	S	0.5	S	2	S
SM80	0.25/4.75	S	1	S	>128	R
SM81	0.5/9.5	S	2	S	128	R
SM82	0.25/4.75	S	0.125	S	1	S
SM83	0.25/4.75	S	1	S	4	S
SM84	0.125/2.375	S	<0.06	S	1	S
SM85	0.25/4.75	S	1	S	4	S
SM86	0.5/9.5	S	1	S	16	I
SM87	0.5/9.5	S	1	S	64	R
SM88	0.125/2.375	S	0.25	S	128	R
SM89	0.25/4.75	S	0.125	S	2	S
SM90	1/19	S	32	R	>128	R
SM91	0.25/4.75	S	<0.06	S	4	S
SM92	0.25/4.75	S	0.5	S	1	S
SM93	0.25/4.75	S	<0.06	S	2	S
SM94	0.25/4.75	S	0.5	S	128	R
SM95	0.25/4.75	S	1	S	8	S
SM96	0.125/2.375	S	<0.06	S	0,5	S
SM97	0.25/4.75	S	1	S	4	S
SM98	0.25/4.75	S	2	S	2	S
SM99	0.5/9.5	S	1	S	16	I

I, orta derecede duyarlı; R, dirençli; S, duyarlı.

Tablo 4.3. *S. maltophilia* izolatlarının test edilen antibiyotiklere duyarlılık durumu.

Antibiyotik	MİK ₅₀ (µg/mL)	MİK ₉₀ (µg/mL)	MİK aralığı (µg/mL)	S		I		R	
				n	%	n	%	n	%
TMP/SMX	0.25	2	0.125->32	90	90.9	-	-	9	9.1
Levofloksasin	1	4	<0.06-32	91	91.8	4	4.1	4	4.1
Seftazidim	8	128	0.5->128	53	53.5	13	13.1	33	33.4

I, orta derecede duyarlı; R, dirençli; S, duyarlı.

4.3. İntegron ilişkili *intI1*, *intI2* ve *intI3* Genlerinin Varlığı

Çalışmaya alınan 99 *S. maltophilia* izolatının üç farklı sınıf integron ile ilişkili integras genleri açısından PCR ile taranması sonucunda dokuz izolatta *intI1* geni için 160 bp büyüklüğünde bant saptanmıştır. İzolatların hepsi *intI2* ve *intI3* bakımından PCR negatif bulunmuştur.

Antibiyotik duyarlılık sonuçları ile beraber değerlendirildiğinde, çalışmadaki TMP/SMX dirençli tüm izolatlarda *intI1* geninin mevcut olduğu belirlenmiş ve *intI1* varlığı ile TMP/SMX direnci arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p<0.001$). Seftazidim ve levofloksasin direnci ile *intI1* pozitifliği arasında ise böyle bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$). İntegron varlığına göre izolatların antibiyotik duyarlılık durumu Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

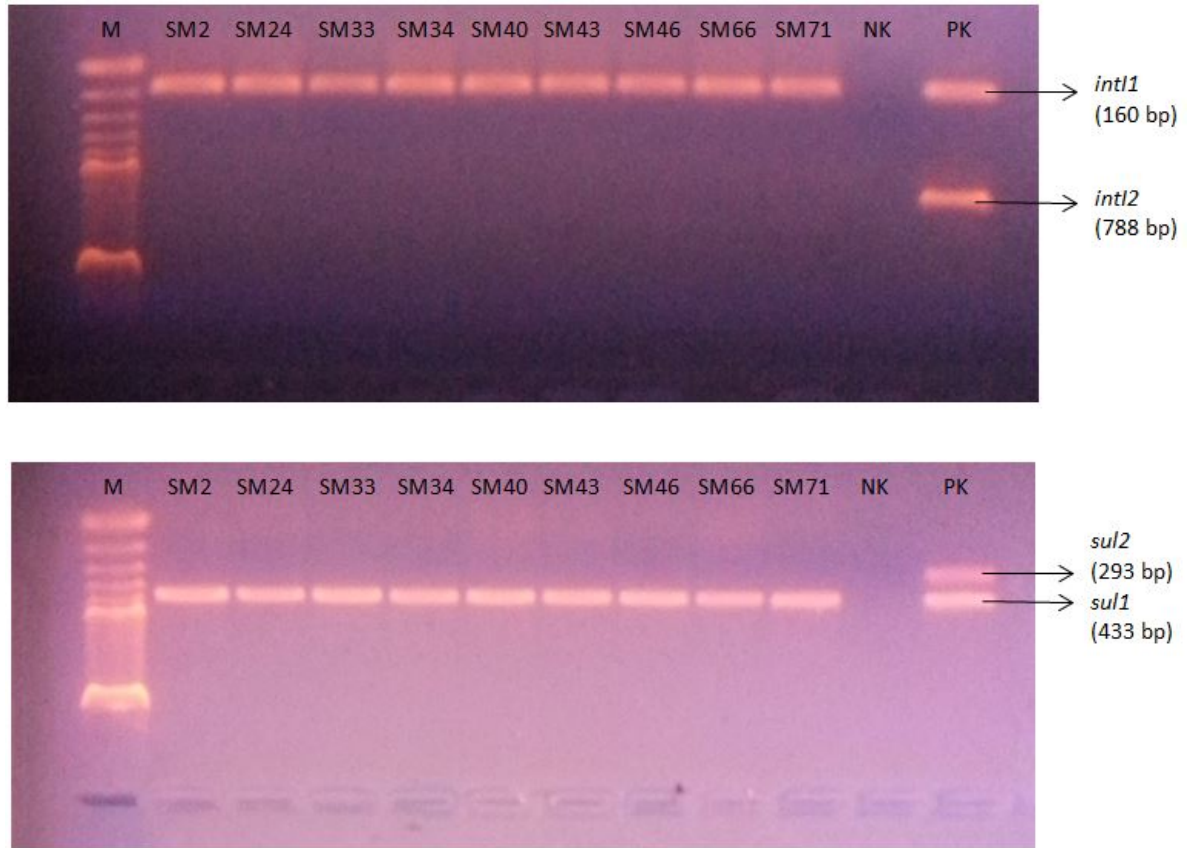
Tablo 4.4. İzolatların integron varlığına göre antibiyotik duyarlılık profili.

Antibiyotik	<i>intI</i> ⁺ izolatlar (n=9)			<i>intI</i> ⁻ izolatlar (n=90)		
	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)
TMP/SMX	0 (0)	-	9 (100)	90 (100)	-	0 (0)
Levofloksasin	8 (88.9)	1 (11.1)	0 (0)	83 (92.2)	3 (3.3)	4 (4.5)
Seftazidim	8 (88.9)	0 (0)	1 (11.1)	45 (50)	13 (14.5)	32 (35.5)

I, orta derecede duyarlı; R, dirençli; S, duyarlı.

4.4. *sul1*, *sul2* ve *sul3* Direnç Genlerinin Varlığı

Tüm izolatlarda *sul1*, *sul2* ve *sul3* varlığı açısından PCR ile taranmış ve dokuz izolatta *sul1* genine ait primerler ile 433 bp büyüklüğünde bant saptanmıştır. Bu dokuz izolattın *intI1* geni saptanan ve TMP/SMX'e dirençli olan izolatlarla aynı olduğu görülmüştür (Şekil 4.2). İzolatların hiçbirinde PCR ile *sul2* ve *sul3* genlerine ait bant görülmemiştir.



M, moleküler belirteç (100 bp); NK, negatif kontrol; PK, pozitif kontrol.

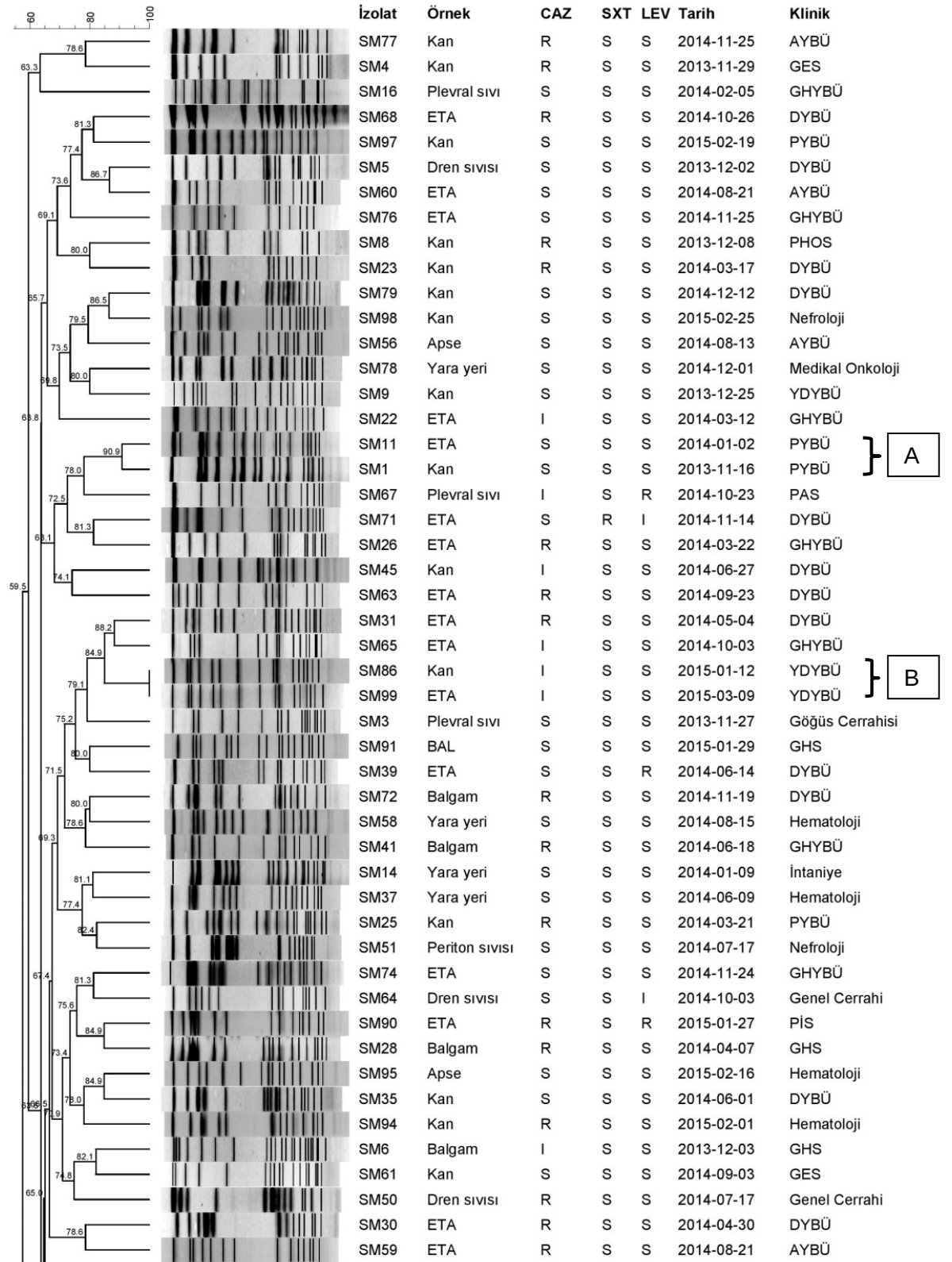
Şekil 4.2. PCR ile pozitif bant saptanan izolatlar.

4.5. PCR Ürünlerinin Dizi Analizi

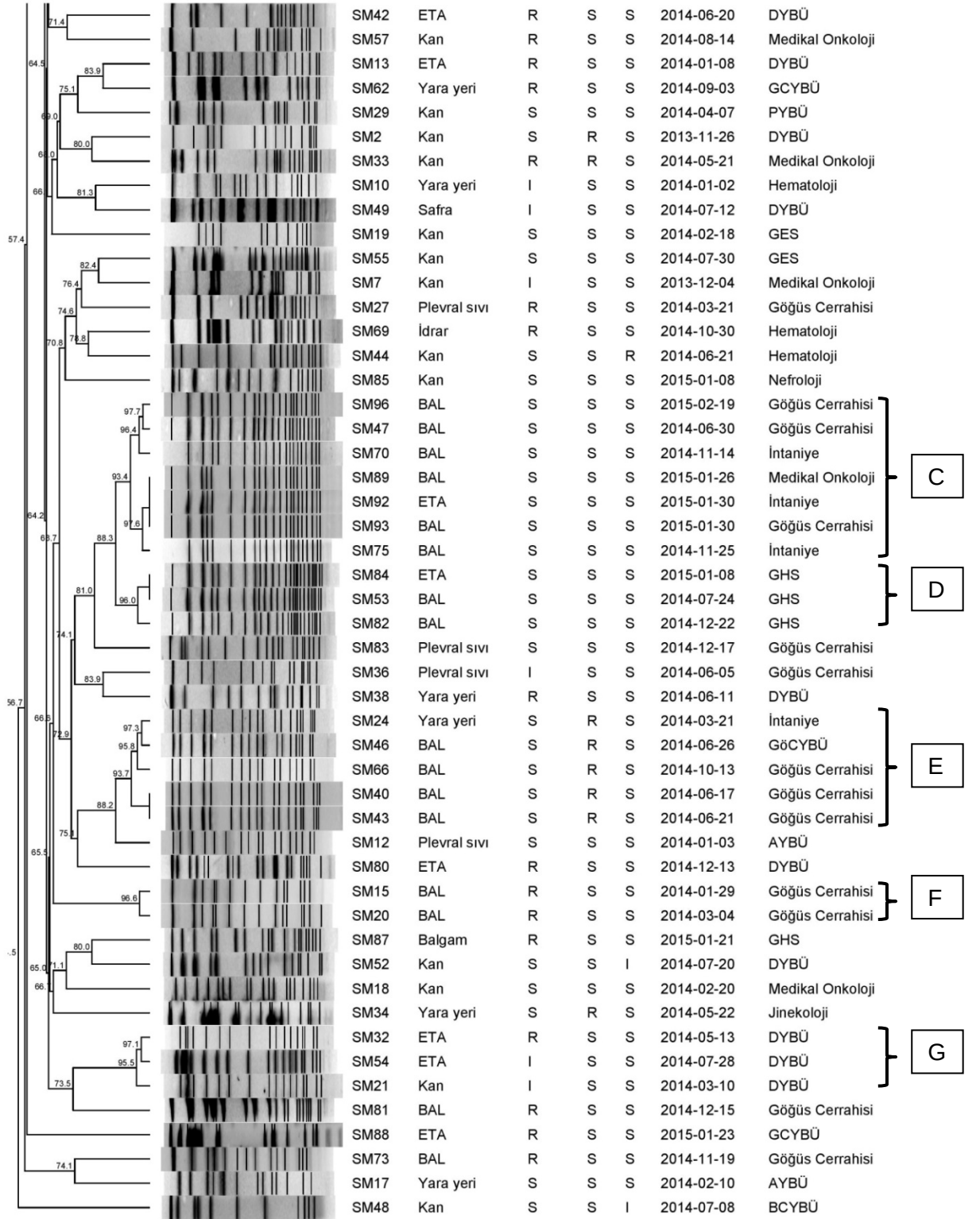
PCR ürünlerinin dizi analizi verileri, BLAST® sekans analiz aracı kullanılarak NCBI veri tabanında bulunan dizilerle karşılaştırıldığında, dokuz izolatta saptanan bantların, *intI1* ve *sul1* genleri ile uyumlu olduğu doğrulanmıştır.

4.6. PFGE İle Genotiplendirme

Çalışmaya alınan 99 *S. maltophilia* izolatının PFGE analizi sonucunda izolatların 75'i sporadik; 24'ü klonal ilişkili (benzerlik $\geq$ %90) olarak bulunmuştur. Klonal olarak ilişkili izolatlar, her biri 2-7 adet izolat içeren yedi farklı klonda (A-G) toplanmıştır (Şekil 4.3). İzolatların benzerlik yüzdesini gösteren dendrogram, izole edildikleri klinik, izolasyon tarihi, örnek türü ve antibiyotik duyarlılık profili Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. *S. maltophilia* izolatlarına ait dendrogram.



Şekil 4.3. *S. maltophilia* izolatlarına ait dendrogram (devamı).

BAL, bronkoalveoler lavaj; ETA, endotrakeal aspirat; CAZ, seftazidim; LEV, levofloksasin; SXT, trimetoprim-sülfametoksazol; I, orta derecede duyarlı; R, dirençli; S, duyarlı; AYBÜ, anesteziyoloji yoğun bakım ünitesi; BCYBÜ, beyin cerrahisi yoğun bakım ünitesi; DYBÜ, dahiliye yoğun bakım ünitesi; GCS, genel cerrahi servisi; GES, gastroenteroloji servisi; GHS, göğüs hastalıkları servisi; GHYBÜ, göğüs hastalıkları yoğun bakım ünitesi; GöçYBÜ, göğüs cerrahisi yoğun bakım ünitesi; PAS, pediatri adolesan servisi; PHOS, pediatri hematoloji-onkoloji servisi; PIS, pediatri intaniye servisi; PYBÜ, pediatri yoğun bakım ünitesi; YDYBÜ, yeni doğan yoğun bakım ünitesi

PFGE sonuçlarına göre *S. maltophilia* izolatlarından ikisi A klonunda yer almıştır. Söz konusu izolatlar, pediatri yoğun bakım ünitesinde yatmakta olan hastalardan farklı tarihlerde izole edilmiştir. İzolatlardan biri 16.11.2013 tarihinde kan kültüründen, diğeri ise 02.01.2014 tarihinde başka bir hastanın ETA kültüründen izole edilmiştir. Bu izolatların test edilen üç antibiyotiğe de duyarlı olduğu görülmüştür.

B klonu, PFGE analizine göre %100 benzerlik gösteren iki izolattan oluşmaktadır. İzolatlardan ilki 12.01.2015 tarihinde yeni doğan yoğun bakım ünitesinde yatan bir hastanın kan kültüründen, diğeri ise 09.03.2015 tarihinde aynı serviste yatan başka bir hastanın ETA kültüründen izole edilmiştir. Söz konusu izolatlar, TMP/SMX ve levofloksasine duyarlı, seftazidime ise orta derecede duyarlı olarak bulunmuştur.

Çalışmadaki majör klon olduğu görülen C klonunda yedi izolat bulunmaktadır. Bu klonda yer alan izolatlardan ilki 30.06.2014 tarihinde göğüs cerrahisi servisinde takip edilen bir hastanın BAL örneğinden izole edilmiştir. Bu klona ait diğer izolatlar, üçü intaniye, ikisi göğüs cerrahisi ve biri medikal onkoloji servisinde olmak üzere yedi ay boyunca, aralıklarla solunum yolu örneklerinden izole edilmeye devam etmiştir. Bu izolatlardan üç tanesi dört günlük bir süre zarfında, her biri farklı servislerde bulunan hastaların BAL örneğinden izole edilmiş ve PFGE sonucunda ayırt edilemez bant profili göstermiştir. Çalışmadaki izolatlardan üç tanesi D klonu içinde yer almıştır. Bu klondaki izolatların tamamı 24.07.2014 ve 08.01.2015 tarihleri arasında göğüs hastalıkları servisinde gönderilen solunum yolu örneklerinden izole edilmiş olup izolatlardan iki tanesi %100 benzerlik göstermiştir. PFGE analizine göre D klonunda yer alan izolatlar, C klonundaki izolatlar ile muhtemel ilişkili olarak değerlendirilmiştir (benzerlik $\geq$ %85). Bu iki klondaki izolatların tamamı test edilen antibiyotiklere karşı duyarlı bulunmuştur.

E klonu, üçü göğüs cerrahisi servisi, biri göğüs cerrahisi yoğun bakım ünitesi ve biri de intaniye servisinde izole edilmiş toplam beş izolattan oluşmaktadır. Bu klondaki izolatlar ilk kez 21.03.2014 tarihinde ortaya çıkmış ve 13.10.2014 tarihine kadar varlığını sürdürmüştür. Bunlardan ilki yara yeri örneğinden izole edilmiş olup geri kalan dördü BAL örneklerinden izole edilmiştir. İzolatlardan ikisi PFGE sonucunda ayırt edilemez bant profili göstermiştir. Bu klondaki izolatların tamamı levofloksasin ve seftazidime duyarlı iken, TMP/SMX'e ise dirençli bulunmuştur.

F klonunda iki izolat bulunmaktadır. Söz konusu izolatlar, göğüs cerrahisi servisinde yatmakta olan hastalardan 29.01.2014 ve 04.03.2014 tarihlerinde gönderilmiş olan BAL örneklerinden izole edilmiştir. Antibiyotik duyarlılık profilleri incelendiğinde izolatların seftazidime dirençli, TMP/SMX ve levofloksasine ise duyarlı olduğu görülmüştür.

G klonunda, tamamı dahiliye yoğun bakım ünitesindeki hastalardan olmak üzere üç izolat bulunmaktadır. İzolatlardan ilki 10.03.2014 tarihinde kan kültüründen izole edilmiş olup, diğer ikisi 13.05.2014 ve 28.07.2014 tarihlerinde farklı hastaların ETA kültürlerinden izole edilmiştir. İzolatların üçü de TMP/SMX ve levofloksasine duyarlı iken, ikisi seftazidime dirençli, biri de orta duyarlı olarak bulunmuştur.

PFGE profillerine göre aynı klonda yer alan izolatlardan biri klon temsilcisi olarak seçilip, o klondaki diğer izolatlar çalışma dışı tutulduğunda, kalan 82 suşun TMP/SMX, levofloksasin ve seftazidime duyarlılık oranları sırasıyla %93.9, %90.2 ve %48.8 olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde, PFGE profilleri dikkate alınarak yapılan değerlendirmede *S. maltophilia* suşları arasında sınıf 1 integron ve *sul1* geni taşıma oranı %6.1 olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu veriler, tüm izolatlar değerlendirmeye alınarak sunulan bulgularla istatistiksel açıdan anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$).

4.7. Çevre Kültürleri

PFGE sonucunda BAL örneklerinde kümelenme saptanması sebebiyle bronkoskoplardan ve yıkama-dezenfeksiyon cihazından örnekleme yapılmış ancak kültür sonucunda *S. maltophilia* üremesi görülmemiştir. Bununla birlikte bronkoskoplardan birine ait kanallarda *P. aeruginosa*, *Pseudomonas putida* ve *Enterococcus faecium* üremiş; yıkama-dezenfeksiyon cihazının iç yüzeyi ile son durulama suyunda ise *Achromobacter xylosoxidans* üremesi tespit edilmiştir. Uygun temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinden sonra alınan örneklerde herhangi bir mikroorganizma üremesi görülmemiştir.

5. TARTIŞMA

S. maltophilia, hastane içinde ve dışında suyla ilişkili birçok çevresel kaynaktan izole edilebilen nonfermenter bir Gram negatif basildir. Çoklu ilaca dirençli bir mikroorganizma olması ve artan sıklıkta nozokomiyal enfeksiyonlara yol açması bakımından dünya genelinde giderek önem kazanmaktadır (6). *S. maltophilia*, immün yetmezlik, malignite, kronik akciğer hastalıkları, yoğun bakım ünitesinde yatış, mekanik ventilasyon, kateter ve benzeri yabancı cisimlerin varlığı, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı gibi risk faktörlerini taşıyan hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara yol açmaktadır (39, 45, 81).

Yoğun bakım ünitelerinde takip edilen hastalarda, *S. maltophilia* enfeksiyonları genel popülasyona oranla daha sık görülmektedir (8). Yao ve ark. (82), Kanada’da 10 aylık bir süreçte ardışık olarak izole ettikleri 109 *S. maltophilia* izolatının 52’sinin (%47.7) yoğun bakım orijinli olduğunu bildirmiştir. Avrupa’da SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Programı kapsamında, katılımcı 24 üniversite hastanesinden toplanan 154 *S. maltophilia* izolatının değerlendirildiği bir çalışmada, izolatların 64’ünün yoğun bakım hastalarına ait olduğu belirtilmiştir (83). Ülkemizde ise Çaylan ve ark. (84) 2000-2004 yılları arasında nozokomiyal *S. maltophilia* enfeksiyonlarını inceledikleri çalışmalarında, *S. maltophilia* izolasyonu yapılan 153 hastadan %42.5’inin yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar olduğunu belirlemiştir.

Bu verilerle uyumlu olarak; klinik *S. maltophilia* izolatlarının incelenildiği bu çalışmada, 99 izolatın 47’sinin (%47.5) yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalardan izole edildiği bulunmuştur. Bu durum, yoğun bakım hastalarının *S.*

maltophilia enfeksiyonları için bildirilen birçok risk faktörünü bir arada bulundurması ile açıklanabilir.

S. maltophilia, entübasyon tüpü, santral venöz kateterler gibi yabancı cisimlere ve akciğer hücreleri gibi canlı yüzeylere tutunup biyofilm oluşturabilmektedir (6, 24). Biyofilm, bakterileri immün sistemden ve antimikrobiyal ajanların etkisinden korumaktadır (21). Bu durum, *S. maltophilia*'nın kolonizasyonunu kolaylaştırmakta ve kolonize hastalarda zamanla enfeksiyon tablosu ortaya çıkabilmektedir (47). *S. maltophilia*'nın yol açtığı enfeksiyonlar arasında sıklık bakımından ilk sırada pnömoniler yer alırken, ikinci sırada kan dolaşımı enfeksiyonlarının olduğu bildirilmektedir (5, 18, 85). Ayrıca bu mikroorganizmaya bağlı deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, kemik ve eklem enfeksiyonları, intraabdominal enfeksiyonlar, üriner sistem enfeksiyonları, göz enfeksiyonları, endokardit ve menenjit de görülebilmektedir (6, 8, 73).

SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Programı dahilinde üç yıllık bir süreçte, beş farklı bölgeden (Kanada, ABD, Latin Amerika, Avrupa, Asya-Pasifik) toplanan 842 *S. maltophilia* izolatının değerlendirildiği bir çalışmada, *S. maltophilia*'nın en sık solunum yolu örneklerinden izole edildiği rapor edilmiştir. Aynı çalışmada, solunum yolu izolatlarının prevalansının ikinci sırada gelen kan izolatlarından dört kat daha fazla olduğu belirtilmiştir (86). İspanya'da üç farklı şehirdeki toplam altı hastanede 17 aylık bir süre zarfında, 129 hastadan *S. maltophilia* izole edilmiş ve izolatların %52'sinin solunum yolu, %18'inin yara yeri, %14'ünün ise kan ve kateter ucu örneklerinden izole edildiği bildirilmiştir (87). Çok merkezli bir başka çalışmada, 377 *S. maltophilia* izolatı değerlendirilmiş ve izolatların %68'inin solunum yolu kaynaklı olduğu, ikinci sırada ise kan izolatlarının yer aldığı bildirilmiştir (88). Juhász ve ark. (89), 2009-2011 yılları arasında *S. maltophilia* ile enfekte olan 100 hastanın 31'inde ETA, 30'unda BAL, 7'sinde balgam, 25'inde kan örneğinden bu bakteriyi izole etmiştir. Gülmez ve Hasçelik (11) ise 1998-2003 yılları arasında 188 hastanın klinik örneğinden 205 adet *S. maltophilia* izole ettikleri çalışmalarında, solunum yolu örneklerinin %40 gibi bir oranla ilk sırada yer aldığını ve bunu %21.5 ile kan örneklerinin izlediğini bildirmiştir.

Benzer şekilde bu çalışmada da *S. maltophilia*, en sık solunum yolu örneklerinden (%24.2 ETA, %17.2 BAL, %5.1 balgam) ve ikinci sıklıkta da kan kültürü örneklerinden

(%28.3) izole edilmiştir. Bunları sırasıyla yara yeri, plevral sıvı, apse, dren sıvısı, idrar, safra ve periton sıvısı örneklerinin izlediği görülmüştür.

S. maltophilia'nın birçok antimikrobiyal ajana kalıtsal olarak direnç göstermesi, tedavide sorunlara yol açmaktadır. TMP/SMX, bu mikroorganizmaya bağlı enfeksiyonların tedavisinde halen ilk seçenek antimikrobiyal ajan olarak kabul edilmektedir (5, 8). Tikarsilin-klavulonat, seftazidim, levofloksasin, moksifloksasin, minosiklin, tigesiklin ve kolistin, tedavi rejimlerinde kendisine yer bulan diğer ajanlardır (56). *S. maltophilia* enfeksiyonlarında tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması ve kazanılmış direnç mekanizmaları ile aktif ajanlara da direnç gelişebilmesi nedeniyle, direnç oranlarının takip edilmesi, ampirik antimikrobiyal tedavinin seçimi ve direnç gelişimini azaltmaya yönelik önlemlerin başarısı açısından önem arz etmektedir.

SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Programı'nın bir parçası olarak, 2001-2004 yılları arasında dünya genelinde dört farklı bölgeden (Avrupa, Asya-Pasifik, Kuzey Amerika, Latin Amerika) toplam 1256 *S. maltophilia* izolatının antimikrobiyal duyarlılığının belirlendiği bir çalışmada, test edilen ajanlar arasında en yüksek duyarlılık oranı %97 ile TMP/SMX için bildirilmiştir. Levofloksasin, polimiksin B, seftazidim ve tikarsilin-klavulonat için direnç oranları ise sırasıyla %5.8, %27.6, %34.7, ve %17.4 olarak rapor edilmiştir (90).

Sader ve ark. (91), bu sürveyans programının 2011 yılı izolatlarını değerlendirdikleri çalışmalarında, test edilen 362 *S. maltophilia* izolatına karşı *in vitro* olarak en potent ajanlar olarak belirledikleri kolistin, TMP/SMX ve tigesiklin için duyarlılık oranlarını sırasıyla %98.5, %94.5 ve %92.3 olarak bildirmiştir. Çalışmada test edilen diğer ajanlar olan levofloksasin, doksisisiklin ve seftazidim için ise direnç oranları sırasıyla %13.6, %39.7 ve %48.6 olarak kaydedilmiştir. Bir önceki çalışma ile direnç oranları karşılaştırıldığında, TMP/SMX, levofloksasin ve seftazidim direncinin yıllar içerisinde artış göstermiş olması dikkat çekicidir.

Benzer bir artış, 2003-2008 yılları arasında dünya genelindeki 119 merkezden toplanan 1586 klinik *S. maltophilia* izolatının antibiyotik duyarlılık sonuçlarını sunan bir çalışmada da vurgulanmaktadır. Farrell ve ark. (92) tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada, %96 duyarlılık oranı ile TMP/SMX'in *S. maltophilia* izolatları üzerinde en

etkili ajan olduğunu belirlenmiş ve tigesiklinin %95.5 duyarlık ile TMP/SMX'e benzer potense sahip olduğu bildirilmiştir. Bölgelere göre bakıldığında tedavide ilk seçenek olan TMP/SMX için en yüksek direnç %9.2 ile Asya-Pasifik ülkelerinde tespit edilirken, en düşük direnç oranı %1.1 ile Avrupa'da gözlenmiştir. Ayrıca, alternatif ajanlar olarak görülen seftazidim, levofloksasin, polimiksin B ve tikarsilin-klavulonata olan direncin artma eğiliminde olabileceğine dikkat çekilmiş ve antimikrobiyal direnç takibinin gerekliliğine vurgu yapılmıştır.

Wu ve ark. (88), 1998-2008 yılları arasında Tayvan'daki 38 farklı hastaneden toplanan klinik *S. maltophilia* izolatlarının %99.7'sinin minosikline, %96'sının tigesikline, %82.5'inin TMP/SMX'e, %79.6'sının levofloksasine, %68.7'sinin kloramfenikole, %24.4'ünün seftazidime ve %18.6'sının tikarsilin-klavulonata duyarlı bulunduğunu bildirmiştir. On yıllık çalışma sürecinde seftazidim, minosiklin, tikarsilin-klavulonat ve TMP/SMX duyarlılığında önemli bir düşüş saptanmadığı belirlenen çalışmada levofloksasin duyarlılığında anlamlı bir düşüş görüldüğüne dikkat çekilmiştir.

ABD ve Avrupa'da bulunan toplam 53 merkezin katıldığı bir başka çalışmada da, 2009-2012 yılları arasında, yatan hastaların invaziv solunum yolu örneklerinden izole edilen ve pnömoni etkeni olarak değerlendirilen izolatlar incelenmiş ve *S. maltophilia*, tüm patojenler arasında ABD'de altıncı, Avrupa'da ise dokuzuncu en sık izole edilen mikroorganizma olmuştur. Toplam 394 *S. maltophilia* izolatına ait direnç verileri incelendiğinde, izolatların hiçbirinde minosiklin direnci bildirilmemiş olup, TMP/SMX direnci ABD'de %3.7 ve Avrupa'da %2.3 olarak rapor edilmiştir. Seftazidim direnci, ABD'de %48, Avrupa'da %54.7; levofloksasin direnci ise ABD'de %15.3, Avrupa'da ise %8.4 olarak raporlanmıştır (93).

Bir diğer çok merkezli çalışmada, 2007-2011 yılları arasında Kanada'daki üçüncü basamak hastanelerden toplanan *S. maltophilia* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılığı araştırılmış ve TMP/SMX, levofloksasin ve seftazidim için duyarlılık oranları sırasıyla %86.6, %66.9 ve %25.8 olarak verilmiştir (94). Bu çalışmayı takiben, Walkty ve ark. (95), 2011-2012 yıllarına ait izolatlarda, TMP/SMX'e duyarlılık oranını %78.8, seftazidim duyarlılığını ise %23.1 olarak belirlemişlerdir.

Artan direnç ve bölgeler arasında değişen oranlar, her merkezin kendi direnç durumunu takip etmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu amaçla Türkiye’de yapılan çalışmalarda duyarlılık oranları, TMP/SMX için %84.8-100, levofloksasin için %76.2-95, seftazidim için %22.3-50 ve tikarsilin-klavulonat için %66-82.4 arasında bildirilmiştir (11, 84, 96-101). Bu çalışmada ise TMP/SMX, levofloksasin ve seftazidim için duyarlılık oranları sırasıyla %90.9, %91.8 ve %53.5 olarak belirlenmiş olup; TMP/SMX duyarlılığı Türkiye ortalamasına yakın, levofloksasin ve seftazidim duyarlılığı ise bu ortalamanın üzerinde bulunmuştur. Duyarlılık durumu göz önüne alındığında bu hastanedeki *S. maltophilia* enfeksiyonlarında TMP/SMX ve levofloksasinin ampirik tedavi rejimlerinde kullanılabilecek ajanlar olduğu düşünülmüştür.

Nozokomiyal patojenlerin sahip olduğu direnç genlerinin saptanması ve direncin aktarımında önemli olan mobil genetik elementlerin tanımlanması, bu tip mikroorganizmalara karşı etkili önlemlerin alınabilmesi açısından önem taşımakta olup; direncin tespitinde genotipik ve fenotipik yöntemlerin birlikte kullanılmasının yeni direnç mekanizmalarının fark edilmesine olanak sağlayacağı belirtilmektedir (71). TMP/SMX direnç genlerinin çoğu, aktarılabılır genetik elementler üzerinde bulunmaktadır. Sülfonamid direnç geni olan *sul1* ve trimetoprim direncinden sorumlu olan *dfr* genleri sıklıkla sınıf 1 integronlarla; diğer sülfonamid direnç genleri olan *sul2* ve *sul3* ise daha çok plazmid ve transpozonlarla ilişkili bulunmuştur (102).

Chang ve ark. (103), 2004 yılında yaptıkları çalışmada, TMP/SMX direnç oranını %25 olarak buldukları toplam 93 *S. maltophilia* izolatının %22’sinde sınıf 1 integronların varlığını göstermiş ve sınıf 2 integronlara ise rastlamadıklarını bildirmiştir. Aynı yıl Barbolla ve ark. (104) tarafından 31 *S. maltophilia* izolatının üçünde sınıf 1 integron varlığı tespit edilmiş ve bu izolatlara ait TMP/SMX MİK değerlerinin diğer izolatlara göre dört ila sekiz dilüsyon daha yüksek olduğuna dikkat çekilmiştir. Ayrıca, klonal olarak ilişki göstermeyen bu üç izolatta, sınıf 1 integronların 3’-korunmuş ucunda yer alan *sul1* geninin varlığı da gösterilmiş ancak söz konusu izolatlardan birinin klonal olarak ilişkili bulunduğu diğer iki izolatta sınıf 1 integron ve *sul1* genine rastlanmadığı belirtilmiştir.

Chang ve ark. (105) tarafından 2007 yılında yapılan başka bir çalışmada, 103 *S. maltophilia* izolatu *intI1*, *intI2*, *sul1* ve *sul2* genlerinin varlığı açısından taranmış ve 26 TMP/SMX dirençli izolatın 18'inde *intI1* ve 21'inde *sul1* geni saptanmıştır. Araştırmacılar, *intI2* ve *sul2* genlerine rastlamadıkları bu çalışmada, TMP/SMX direnci ile *intI1* ve *sul1* varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulduklarını bildirmiştir.

Toleman ve ark. (9) ise SENTRY Programı kapsamında dünya genelinden toplanan, 25'i TMP/SMX'e dirençli ve 30'u duyarlı olmak üzere toplam 55 izolatta *intI1*, *sul1*, *sul2*, *sul3* ve *dfr* genleri ile ISCR elementlerinin varlığını araştırmış ve TMP/SMX'e dirençli izolatların 17'sinde sınıf 1 integronlarla ilişkili olarak *sul1* genine rastlamıştır. *sul1* pozitif izolatların coğrafi açıdan yaygınlığına dikkat çekilen bu çalışmada, TMP/SMX dirençli izolatların dokuzunda, altısı ISCR2 ile ilişkili olmak üzere *sul2* geninin varlığı da gösterilmiştir.

Liaw ve ark. (36), %24'ü TMP/SMX'e dirençli olmak üzere 70 *S. maltophilia* izolatının %60'ında sınıf 1 integronların varlığına rastlamış ve integronlar ile siprofloksasin, seftazidim, sefepim, tikarsilin-klavulonat, piperasilin-tazobaktam, TMP/SMX, meropenem ve gentamisin direnci arasında anlamlı bir ilişki saptadıklarını rapor etmişlerdir. Benzer bir ilişki Huang ve ark. (106) tarafından da bildirilmiştir. Epidemiyolojik olarak ilişkisiz 200 *S. maltophilia* izolatının *intI1* ve *sul1* varlığı açısından tarandığı bu çalışmada araştırmacılar, TMP/SMX'e dirençli 26 izolatın 23'ünde bu iki geni de saptamış ve sınıf 1 integron pozitif izolatlarda kanamisin, tobramisin ve TMP/SMX'e daha yüksek direnç görüldüğünü bildirmiştir.

Song ve ark. (107), Kore'deki üç farklı üniversite hastanesinden toplanan 120 *S. maltophilia* izolatını değerlendirmiş ve *sul1* pozitif 28 izolatın 17'sinde sınıf 1 integronlara rastlamıştır. ISCR2 ve *sul2* tespit edilmeyen bu çalışmada, TMP/SMX dirençli izolatların, duyarlı izolatlara göre *sul1* geni ve sınıf 1 integronları anlamlı oranda daha fazla taşıdığı bildirilmiştir. Kore'de yapılan diğer bir çalışmada, 32'si TMP/SMX'e dirençli 252 *S. maltophilia* izolatu *sul1*, *sul2*, *sul3* ve sınıf 1 integron varlığı açısından taranmış ve 23 izolatta 15'i sınıf 1 integronlarla ilişkili olmak üzere *sul1* geni pozitif olarak rapor edilmiştir. Söz konusu 23 izolat için TMP/SMX MİK değeri $\geq 64/1216$ mg/L olarak belirlenirken, *sul1* saptanmayan ve TMP/SMX'e dirençli olan 9 izolatta bu değer 4/76-8/152 mg/L olarak bildirilmiştir (108).

Çin’de yapılan ve TMP/SMX direnç oranının %30.4 olarak rapor edildiği bir çalışmada, değerlendirilen 102 izolatın hiçbirinde sınıf 2 ve sınıf 3 integronlara rastlanmamış olup, 66’sında *intI1*, 52’sinde *sul1*, 13’ünde *sul2* (yedisi *sul1* ile birlikte) ve 16’sında *dfrA* genleri pozitif bulunmuştur. *sul1* pozitif izolatlardan 25’inin; *sul2* ve *dfrA* pozitif izolatların ise tamamının TMP/SMX’e dirençli olduğu bildirilmiştir. *sul1* geni varlığının her zaman TMP/SMX direncine yol açmayabileceğinin ifade edildiği çalışmada, *sul2* ve *dfrA* genleri ile birlikteyken bu direncin ortaya çıkabileceği hipotezi öne sürülmüştür (81).

Kaur ve ark. (109) tarafından yapılan ve 106 klinik izolatta *intI1*, *intI2*, *intI3*, *sul1* ve *sul2* genlerinin varlığının araştırıldığı çalışmada, beşi TMP/SMX dirençli olmak üzere toplam dokuz izolatta *intI1* saptanıp, izolatların hiçbirinde PCR ile *intI2* ve *intI3* genlerine rastlanmadığı rapor edilmiştir. TMP/SMX’e dirençli izolatlardan ikisinde *sul1* ve *sul2* genlerinin birlikteliği bildirilmiş; geri kalan 22 izolatın ise *sul1* (10 izolat) veya *sul2* (12 izolat) genlerinden yalnız birini taşıdığı belirtilmiştir.

Ülkemizde ise Özkaya ve ark. (110), TMP/SMX’e dirençli 32 *S. maltophilia* izolatının birinde sınıf 1 integron ve *sul1* birlikteliğine rastlamış ve diğer 31 izolattaki TMP/SMX direncinin başka mekanizmalara bağlı olarak ortaya çıkmış olabileceğini öne sürmüştür. Usta ve ark. (101) ise klinik *S. maltophilia* izolatlarında sınıf 1, 2 ve 3 integronların varlığı ve antibiyotik direnci ile ilişkilerini araştırmış ve 100 izolatın beşinde *intI1* geninin varlığını göstermiştir. *intI2* ve *intI3* genlerine rastlamadıkları çalışmalarında, TMP/SMX, seftazidim, levofloksasin ve kloramfenikol direnci ile integron varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, 99 klinik *S. maltophilia* izolatının PCR ile taranması sonucunda, TMP/SMX’e dirençli dokuz izolatın hepsinde *intI1* ve *sul1* genleri birlikte saptanmış olup; duyarlı izolatlarda bu gen bölgelerine rastlanmamıştır. Söz konusu dokuz izolatın sekizi için TMP/SMX MİK değeri >32/608 µg/mL; biri için ise 8/152 µg/mL olarak belirlenmiştir. TMP/SMX direnci ile *intI1* varlığı arasında anlamlı bir ilişki saptanmış olup, benzer bir ilişki seftazidim ve levofloksasin direnci için gösterilememiştir. İzolatların hepsinde *intI2*, *intI3*, *sul2* ve *sul3* genleri için PCR sonucu negatif olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar diğer araştırmacıların bulguları ile uyumlu olarak, sınıf 1 integronların 3’-korunmuş bölgesinde yer alan *sul1* geninin, *S. maltophilia*

izolatlarındaki TMP/SMX direncinde önemli bir role sahip olduğuna işaret etmektedir. Bu durum, horizontal gen transferi ile tedavide birinci seçenek olarak kabul edilen TMP/SMX'e olan direncin yaygınlaşması açısından tehdit oluşturmakta ve TMP/SMX direncinin, moleküler mekanizmaları ile birlikte takip edilmesi gerektiğinin altını çizmektedir.

Direnç problemlerine bağlı olarak *S. maltophilia* enfeksiyonlarının tedavisinde ortaya çıkan sorunlar, klinik suşların epidemiyolojik karakterizasyonunun önemini artırmaktadır. Bu mikroorganizmaya bağlı enfeksiyonların ve nozokomiyal salgınlara epidemiyolojisinin araştırılmasında başta PFGE olmak üzere çeşitli moleküler tiplendirme yöntemlerine başvurulmaktadır (3, 111, 112). *S. maltophilia* izolatlarının PFGE ile tiplendirilmesinde, restriksiyon enzimi olarak sıklıkla XbaI ve SpeI kullanılmaktadır (6, 73). Yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada SpeI enzimi ile XbaI'e göre daha az sayıda bant oluşmakla birlikte daha yüksek ayırım gücü elde edildiği bildirilmiştir (113).

İspanya'da yapılan bir çalışmada 105 yatan hastaya ait 132 klinik izolat ve hastaneden izole edilen yedi çevresel izolatın PFGE ile tiplendirilmesi sonucunda tek bir hastaneden köken almasına rağmen izolatlar arasında yüksek genetik çeşitlilik izlenmiş olup; bu durumun *S. maltophilia*'nın çevresel olarak yaygın bir mikroorganizma olması ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Söz konusu çalışmada, hastalar arasında çapraz bulaştan sorumlu olduğu öne sürülen beş klon tespit edilmiş olup; fiberbronkoskoplardan izole edilen bir *S. maltophilia* suşunun, respiratuvar izolatları içeren bir klon ile aynı PFGE paternini gösterdiğine dikkat çekilmiştir (114).

Schaumann ve ark. (115), Almanya'daki bir üniversite hastanesinde bir yıllık süreçte 59 hastanın farklı klinik örneklerinden izole edilen 96 *S. maltophilia* izolatının PFGE analizi sonucunda, her biri 2-11 adet izolat içeren 17 küme ve 45 sporadik patern saptandığını ve hastanelerinde belirli bir *S. maltophilia* suşuna bağlı salgın tespit edilmediğini bildirmiştir.

İtalya'daki bir KF merkezinde yapılan araştırmada, üç yıllık süreçte hastaların %30.4'ünde en az bir solunum yolu örneğinde *S. maltophilia* üremesi görülmüş ve tesadüfen seçilen 50 hastaya ait 110 izolat, PFGE yöntemiyle tiplendirilmiştir. Toplamda

65 majör patern belirlenen çalışmada, seri pasajlar ile PFGE paterninin değişim göstermemesinden yola çıkılarak, bu genetik heterojenliğin PFGE paternlerinin stabil olmayışından ziyade gerçek klonal çeşitlilikle ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca, farklı hastalardan aynı PFGE profiline sahip suşların izole edilmesi, hastalar arasında muhtemel yayılım olarak değerlendirilmiş ve bu durumun sık olmamakla birlikte mümkün olabileceği sonucuna varılmıştır (116).

Neela ve ark. (117) tarafından, üçüncü basamak bir hastanede bir yıllık süreçte izole edilen 63 izolat, PFGE ile tiplendirilmiş ve 59 farklı patern tespit edilmiştir. Farklı birimlerdeki hastaların klinik örneklerinden aynı bant profiline sahip suşların izole edilmesi sebebiyle servisler arasında da çapraz bulaşın olabileceğine vurgu yapılan çalışmada, bu tarz yayılımların dirençli izolatlarla gerçekleşme potansiyeli nedeniyle antibiyotik direnç surveyansı yanında sürekli epidemiyolojik monitorizasyonun da gerekli olduğunun altı çizilmiştir.

Flores-Treviño ve ark. (118), yedi yıllık süreçte toplanan 102 klinik izolatın tiplendirilmesi sonucunda, 89 farklı PFGE profilinin belirlendiği ve izolatların %21.6'sının dokuz küme içerisinde toplandığını rapor etmiştir. Bu genetik çeşitlilikten yola çıkılarak, izolatların çoğunun birbirinden bağımsız olarak edinilmiş olabileceği ifade edilmiştir.

Ülkemizde ise Köseoğlu ve ark. (119), 40 *S. maltophilia* izolatının moleküler epidemiyolojisini inceledikleri çalışmalarında, izolatların 22'sinin üç ayrı küme içerisinde toplandığı; geri kalan 18 izolatın ise farklı PFGE paternleri gösterdiğini bildirmiştir. Ayrıca, tespit edilen kümelerden ilkinde yer alan 11 suştan dokuzunun aynı antibiyotik duyarlılık profiline sahip olduğu; diğer iki kümede yer alan suşların ise farklı duyarlılık paternleri gösterdiği rapor edilmiştir. Genetik çeşitliliğin, selektif antibiyotik baskısı altında farklı çevresel izolatların seçilmesine bağlı olabileceği ifade edilen çalışmada, aynı genotipe sahip izolatlardan oluşan klonların da bulunması sebebiyle çapraz bulaşın tamamen göz ardı edilemeyeceğine dikkat çekilmiştir. Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada, 188 hastaya ait 205 klinik izolat PFGE ve ERIC-PCR yöntemleriyle tiplendirilmiş ve PFGE yöntemi ERIC-PCR'a göre daha ayırt edici bulunmuştur. PFGE sonucunda 31 izolatın genetik olarak ilişkili bulunduğu ve toplamda 188 farklı genotip tanımlanan çalışmada, antibiyogram paternleri ile genotiplerin ilişki göstermediği

bildirilmiştir. On beş hastanın farklı vücut bölgelerine ait birden fazla izolat bulunmasına rağmen yalnız sekiz hastada bu izolatların benzerlik gösterdiğine değinilen çalışmada, hastalar arasında çapraz enfeksiyonun sık olmadığı ancak özellikle yoğun bakım ünitelerinde olmak üzere bu bakteriye bağlı minör salgınların ortaya çıkabileceği sonucuna varılmıştır (11).

Diğer araştırmacılar tarafından vurgulandığı gibi, bu çalışmada da epidemiyolojik tiplendirme sonucunda *S. maltophilia* izolatları arasında yüksek oranda genetik çeşitlilik saptanmış olup; bu durum, *S. maltophilia*'nın geniş çevresel dağılımının bir sonucu olarak farklı kaynaklardan edinilmiş olması ihtimalini düşündürmektedir. Moleküler epidemiyolojik araştırmalarda altın standart olarak kabul gören PFGE yönteminin kullanıldığı bu çalışmada, SpeI ile makrorestriksiyon sonrasında izolatların 24'ü (%24.2) klonal olarak kümelenme göstermiş olup; geri kalan 75 izolata ait sporadik genotiplerle birlikte toplam 82 farklı PFGE profili tespit edilmiştir. PFGE dışında, AP-PCR ve rep-PCR gibi diğer moleküler epidemiyolojik yöntemlerin kullanıldığı çalışmalarda da benzer şekilde genetik çeşitlilik bildirilmektedir (11, 89, 97, 120-123).

Bu çalışmada, PFGE analizi sonucunda her biri 2-7 adet izolat içeren yedi farklı klon (A-G) tespit edilmiştir. Genomik çeşitlilik yanında klonallığın de izlenmesi, hastalar arasında çapraz bulaş olabildiği veya bu suşların ortak bir kaynaktan edinildiği ihtimalini düşündürmüştür. Bu durum çoklu dirençli patojenlerin yayılımının önlenmesinde enfeksiyon kontrol önlemlerinin doğru ve yeterli bir şekilde uygulanması gerektiğinin altını çizmektedir. Yapılan çalışmalarda, alınan önlemlerle *S. maltophilia*'nın yayılımının sınırlandırılmasında bildirilen başarılı sonuçlar bu görüşü desteklemektedir (124-126). Dirençli suşlarla meydana gelen klonal yayılım sonucu antibiyotik direncinin yaygınlaşması, tedavi güçlüklerine yol açması bakımından enfeksiyon hastalıkları pratiğinde ciddi bir problemdir. Bu çalışmada TMP/SMX'e dirençli bulunan dokuz izolattan beşinin aynı klon (E klonu) içerisinde yer alması, bu tarz yayılımların önüne geçilmesi gerektiğine dikkat çekmektedir.

S. maltophilia, tıbbi aletlerde kolonize olarak biyofilm oluşturabilmektedir (40). Bronkoskoplarla ilişkili olarak *S. maltophilia*'ya bağlı çapraz bulaş ve psödoepidemiler bildirilmiştir (114, 127, 128). Bu çalışmada, PFGE sonuçlarına göre BAL örneklerinde kümelenme görülmesi üzerine hastane enfeksiyon kontrol komitesi ile temasa geçilerek

göğüs hastalıkları ve göğüs cerrahisi birimlerince kullanılan bronkoskoplardan ve yıkama-dezenfeksiyon cihazından kültür için örnekleme yapılmıştır. Ancak, kültür sonucunda *S. maltophilia* üremesi tespit edilememiştir. Bu durumun, klinik numunelerden yapılan izolasyonlar ile çevresel örnekleme arasında geçen sürede *S. maltophilia*'nın ortamdaki uzaklaşmış olmasına veya örneklemedeki muhtemel yetersizliklere bağlı olabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte alınan örneklerden *P. aeruginosa*, *P. putida*, *A. xylosoxidans* ve *E. faecium* üretilmiş olması bronkoskopların dezenfeksiyon sürecinde yetersizlik veya hatalı uygulamalar olabileceğini akla getirmiş olup; takip eden süreçte, uygun dezenfeksiyon işlemleri sağlandıktan sonra tekrar edilen kültürlerde bakteri üremesi görülmemiştir. Bu durum, bronkoskopların *S. maltophilia* ile de kontamine olabileceğini ve bunun sonucunda psödoepidemilere veya predispozan faktörlere sahip hastalarda enfeksiyonlara yol açabileceğini düşündürmektedir.

Fırsatçı bir patojen olan *S. maltophilia*, ciddi nozokomiyal enfeksiyonlara yol açabilmekte ve birçok antimikrobiyal ajana dirençli olması, tedavi seçeneklerini kısıtlandırmaktadır. Bu sebeple *S. maltophilia*'nın başta TMP/SMX olmak üzere tedavide kullanılabilecek ajanlara direnç durumunun takip edilmesi ve direncin yayılımını önlemeye yönelik tedbirlerin alınması gereklidir. *S. maltophilia* gibi dirençli patojenlerin hastane ortamında yayılımının en aza indirilmesi için enfeksiyon kontrol önlemlerinin ve sterilizasyon-dezenfeksiyon prosedürlerinin doğru ve eksiksiz bir şekilde uygulanmasına ihtiyaç vardır. Bu bağlamda, nozokomiyal patojenlerin bulaş yolları araştırılarak önleyici stratejilerin geliştirilmesinde ve alınan enfeksiyon kontrol önlemlerinin etkinliğinin izlenmesinde izolatlar arasındaki klonal ilişkiyi belirlemeye yönelik moleküler epidemiyolojik çalışmalar büyük önem taşımaktadır.

6. SONUÇLAR

1. Bu çalışmadaki 99 klinik *S. maltophilia* izolatı, sıklıkla yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalardan (%47.5) ve çoğunlukla solunum yolu (%46.5) ve kan (%28.3) örneklerinden izole edilmiştir. İzolatların TMP/SMX, levofloksasin ve seftazidime duyarlılık oranları sırasıyla %90.9, %91.9 ve %53.5 olarak bulunmuştur. *S. maltophilia*'nın başta TMP/SMX olmak üzere antimikrobiyal ajanlara direnç durumunun takibi, direnç genlerinin saptanması ve direncin aktarımında önemli olan mobil genetik elementlerin tanımlanması akılcı antibiyotik kullanım politikalarının oluşturulması açısından önem taşımaktadır.

2. Tedavide birinci seçenek olan TMP/SMX'e dirençten sorumlu *sul1*, *sul2*, *sul3* genleri ile horizontal gen transferinde önemli rol oynayan sınıf 1, 2, 3 integronların PCR ile araştırılması sonucunda TMP/SMX'e dirençli izolatların tamamında *sul1* geni ve sınıf 1 integronlarla ilişkili *intI1* geni tespit edilmiştir. İzolatların hepsinde *intI2*, *intI3*, *sul2* ve *sul3* genleri için PCR sonucu negatif olarak bulunmuştur. İntegron varlığı ile levofloksasin ve seftazidim direnci arasında ise anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.

3. Sınıf 1 integronların 3'-korunmuş bölgesinde yer alan *sul1* geninin *S. maltophilia* izolatlarındaki TMP/SMX direncinde önemli bir role sahip olması, direncin yaygınlaşması açısından tehdit oluşturmakta ve TMP/SMX direncinin, moleküler mekanizmaları ile birlikte takip edilmesi gerektiğinin altını çizmektedir.

4. Bu alışmadaki 99 *S. maltophilia* izolatının PFGE yöntemiyle tiplendirilmesi sonucunda izolatların 75'i sporadik; 24' klonal ilişkili olarak bulunmuştur. Genomik eřitlilik yanında klonallığın de izlenmesi, hastalar arasında çapraz bulaş veya ortak bir kaynaktan suşların edinilmesi ihtimalini dşndrmştir.
5. Çoklu dirençli bir nozokomiyal patojen olan *S. maltophilia*'nın hastane ortamındaki yayılımını en aza indirmek için enfeksiyon kontrol önlemlerinin ve sterilizasyon-dezenfeksiyon prosedürlerinin doğru ve eksiksiz bir şekilde uygulanmasına ihtiyaç vardır. Önleyici stratejilerin belirlenmesi ve alınan kontrol önlemlerinin etkinliğinin izlenmesinde moleküler epidemiyolojik çalışmalar büyük öneme sahiptir.

7. KAYNAKLAR

1. Tille PM. *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, and similar organisms. In: Bailey & Scott's diagnostic microbiology (13th ed) Elsevier, Missouri 2014, pp. 329-34.
2. Winn WC, Allen SD, Janda WM, et al. The nonfermentative Gram-negative bacilli. In: Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology (6th ed) Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2006, pp. 303-91.
3. LiPuma J, Currie B, Peacock S, Vandamme P. *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Ralstonia*, *Cupriavidus*, *Pandoraea*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Delftia*, and *Acidovorax*. In: Versalovic J, Carroll K, Funke G, Jorgensen J, Landry M, Warnock D (eds), Manual of clinical microbiology (10th ed) ASM Press, Washington, DC 2011, pp. 692-713.
4. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Pseudomonas* and related bacteria. In: Medical Microbiology (7th ed) Elsevier, Philadelphia 2013, pp. 288-95.
5. Looney WJ, Narita M, Mühlemann K. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging opportunist human pathogen. Lancet Infect Dis 2009;9(5):312-23.
6. Brooke JS. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. Clin Microbiol Rev 2012;25(1):2-41.
7. Sánchez MB. Antibiotic resistance in the opportunistic pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. Front Microbiol 2015;6:658.
8. Chang YT, Lin CY, Chen YH, Hsueh PR. Update on infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia* with particular attention to resistance mechanisms and therapeutic options. Front Microbiol 2015;6:893.
9. Toleman MA, Bennett PM, Bennett DM, Jones RN, Walsh TR. Global emergence of trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in *Stenotrophomonas maltophilia* mediated by acquisition of *sul* genes. Emerg Infect Dis 2007;13(4):559-65.
10. Deplano A, Denis O, Rodriguez-Villalobos H, De Ryck R, Struelens MJ, Hallin M. Controlled performance evaluation of the DiversiLab repetitive-sequence-based genotyping system for typing multidrug-resistant health care-associated bacterial pathogens. J Clin Microbiol 2011;49(10):3616-20.

11. Gülmez D, Hasçelik G. *Stenotrophomonas maltophilia*: antimicrobial resistance and molecular typing of an emerging pathogen in a Turkish university hospital. Clin Microbiol Infect 2005;11(11):880-6.
12. Hugh R, Ryschenkow E. *Pseudomonas maltophilia*, an alcaligenes-like species. J Gen Microbiol 1961;26:123-32.
13. Hugh R, Leifson E. A description of the type strain of *Pseudomonas maltophilia*. Int Bull Bacteriol Nomencl Taxon 1963;13(3):133-8.
14. Swings J, de Vos P, van den Mooter M, de Ley J. Transfer of *Pseudomonas maltophilia* Hugh 1981 to the genus *Xanthomonas* as *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1981) comb. nov. Int J Syst Bacteriol 1983;33(2):409-13.
15. Denton M, Kerr KG. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. Clin Microbiol Rev 1998;11(1):57-80.
16. Coenye T, Vanlaere E, Falsen E, Vandamme P. *Stenotrophomonas africana* Drancourt et al. 1997 is a later synonym of *Stenotrophomonas maltophilia* (Hugh 1981) Palleroni and Bradbury 1993. Int J Syst Evol Microbiol 2004;54(Pt. 4):1235-7.
17. Lee M, Woo SG, Chae M, Shin MC, Jung HM, Ten LN. *Stenotrophomonas daejeonensis* sp. nov., isolated from sewage. Int J Syst Evol Microbiol 2011;61(Pt. 3):598-604.
18. Karaba SM, White RC, Cianciotto NP. *Stenotrophomonas maltophilia* encodes a type II protein secretion system that promotes detrimental effects on lung epithelial cells. Infect Immun 2013;81(9):3210-9.
19. DuMont AL, Karaba SM, Cianciotto NP. Type II secretion-dependent degradative and cytotoxic activities mediated by *Stenotrophomonas maltophilia* serine proteases StmPr1 and StmPr2. Infect Immun 2015;83(10):3825-37.
20. de Oliveira-Garcia D, Dall'Agnol M, Rosales M, Azzuz AC, Martinez MB, Girón JA. Characterization of flagella produced by clinical strains of *Stenotrophomonas maltophilia*. Emerg Infect Dis 2002;8(9):918-23.
21. de Oliveira-Garcia D, Dall'Agnol M, Rosales M, et al. Fimbriae and adherence of *Stenotrophomonas maltophilia* to epithelial cells and to abiotic surfaces. Cell Microbiol 2003;5(9):625-36.

22. Huang TP, Somers EB, Wong AC. Differential biofilm formation and motility associated with lipopolysaccharide/exopolysaccharide-coupled biosynthetic genes in *Stenotrophomonas maltophilia*. J Bacteriol 2006;188(8):3116-20.
23. Di Bonaventura G, Spedicato I, D'Antonio D, Robuffo I, Piccolomini R. Biofilm formation by *Stenotrophomonas maltophilia*: modulation by quinolones, trimethoprim-sulfamethoxazole, and ceftazidime. Antimicrob Agents Chemother 2004;48(1):151-60.
24. Pompilio A, Crocetta V, Confalone P, et al. Adhesion to and biofilm formation on IB3-1 bronchial cells by *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from cystic fibrosis patients. BMC Microbiol 2010;10:102.
25. Zgair AK, Chhibber S. Adhesion of *Stenotrophomonas maltophilia* to mouse tracheal mucus is mediated through flagella. J Med Microbiol 2011;60(Pt. 7):1032-7.
26. Crossman LC, Gould VC, Dow JM, et al. The complete genome, comparative and functional analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* reveals an organism heavily shielded by drug resistance determinants. Genome Biol 2008;9(4):R74.
27. Bassler BL. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. Curr Opin Microbiol 1999;2(6):582-7.
28. Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria. Annu Rev Microbiol 2001;55:165-99.
29. Alavi P, Starcher MR, Thallinger GG, Zachow C, Müller H, Berg G. *Stenotrophomonas* comparative genomics reveals genes and functions that differentiate beneficial and pathogenic bacteria. BMC Genomics 2014;15:482.
30. Fouhy Y, Scanlon K, Schouest K, et al. Diffusible signal factor-dependent cell-cell signaling and virulence in the nosocomial pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. J Bacteriol 2007;189(13):4964-8.
31. Huedo P, Yero D, Martínez-Servat S, et al. Two different *rpf* clusters distributed among a population of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical strains display differential diffusible signal factor production and virulence regulation. J Bacteriol 2014;196(13):2431-42.

32. Waters VJ, Gómez MI, Soong G, Amin S, Ernst RK, Prince A. Immunostimulatory properties of the emerging pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Infect Immun* 2007;75(4):1698-703.
33. McKay GA, Woods DE, MacDonald KL, Poole K. Role of phosphoglucomutase of *Stenotrophomonas maltophilia* in lipopolysaccharide biosynthesis, virulence, and antibiotic resistance. *Infect Immun* 2003;71(6):3068-75.
34. Thomas R, Hamat RA, Neela V. Extracellular enzyme profiling of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *Virulence* 2014;5(2):326-30.
35. Adamek M, Linke B, Schwartz T. Virulence genes in clinical and environmental *Stenotrophomonas maltophilia* isolates: a genome sequencing and gene expression approach. *Microb Pathog* 2014;67-68:20-30.
36. Liaw SJ, Lee YL, Hsueh PR. Multidrug resistance in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*: roles of integrons, efflux pumps, phosphoglucomutase (SpgM), and melanin and biofilm formation. *Int J Antimicrob Agents* 2010;35(2):126-30.
37. Chhibber S, Gupta A, Sharan R, Gautam V, Ray P. Putative virulence characteristics of *Stenotrophomonas maltophilia*: a study on clinical isolates. *World J Microbiol Biotechnol* 2008;24:2819-25.
38. García CA, Passerini De Rossi B, Alcaraz E, Vay C, Franco M. Siderophores of *Stenotrophomonas maltophilia*: detection and determination of their chemical nature. *Rev Argent Microbiol* 2012;44(3):150-4.
39. Falagas ME, Valkimadi PE, Huang YT, Matthaiou DK, Hsueh PR. Therapeutic options for *Stenotrophomonas maltophilia* infections beyond co-trimoxazole: a systematic review. *J Antimicrob Chemother* 2008;62(5):889-94.
40. Brooke JS. New strategies against *Stenotrophomonas maltophilia*: a serious worldwide intrinsically drug-resistant opportunistic pathogen. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2014;12(1):1-4.
41. Green H, Jones AM. The microbiome and emerging pathogens in cystic fibrosis and non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Semin Respir Crit Care Med* 2015;36(2):225-35.

42. Senol E. *Stenotrophomonas maltophilia*: the significance and role as a nosocomial pathogen. J Hosp Infect 2004;57(1):1-7.
43. Nyc O, Matejková J. *Stenotrophomonas maltophilia*: Significant contemporary hospital pathogen – review. Folia Microbiol (Praha) 2010;55(3):286-94.
44. Falagas ME, Kastoris AC, Vouloumanou EK, Dimopoulos G. Community-acquired *Stenotrophomonas maltophilia* infections: a systematic review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009;28(7):719-30.
45. Al-Anazi KA, Al-Jasser AM. Infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia* in recipients of hematopoietic stem cell transplantation. Front Oncol 2014;4:232.
46. Durupınar B, Darka Ö. *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Burkholderia* türleri. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (editörler), Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi kitabında (3. baskı) Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2008, ss. 2187-95.
47. Chawla K, Vishwanath S, Gupta A. *Stenotrophomonas maltophilia* in lower respiratory tract infections. J Clin Diagn Res 2014;8(12):DC20-2.
48. Dignani MC, Graziutti M, Anaissie E. *Stenotrophomonas maltophilia* infections. Semin Respir Crit Care Med 2003;24(1):89-98.
49. Hansen CR. *Stenotrophomonas maltophilia*: to be or not to be a cystic fibrosis pathogen. Curr Opin Pulm Med 2012;18(6):628-31.
50. Ciofu O, Hansen CR, Høiby N. Respiratory bacterial infections in cystic fibrosis. Curr Opin Pulm Med 2013;19(3):251-8.
51. Khan IA, Mehta NJ. *Stenotrophomonas maltophilia* endocarditis: a systematic review. Angiology 2002;53(1):49-55.
52. Denton M, Hall MJ, Todd NJ, Kerr KG, Littlewood JM. Improved isolation of *Stenotrophomonas maltophilia* from the sputa of patients with cystic fibrosis using a selective medium. Clin Microbiol Infect 2000;6(7):397-8.
53. Moore JE, Xu J, Millar BC, Courtney J, Elborn JS. Development of a Gram-negative selective agar (GNSA) for the detection of Gram-negative microflora in sputa in patients with cystic fibrosis. J Appl Microbiol 2003;95(1):160-6.

54. Adjidé CC, De Meyer A, Weyer M, et al. A sensitive, specific and predictive isolation medium developed for *Stenotrophomonas maltophilia* study in healthcare settings. *Pathol Biol (Paris)* 2010;58(1):11-7.
55. Hall GS. Nonfermenting and miscellaneous Gram-negative bacilli. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G (eds), *Textbook of diagnostic microbiology* (5th ed) Elsevier, Missouri 2015, pp. 474-94.
56. Abbott IJ, Peleg AY. *Stenotrophomonas*, *Achromobacter*, and nonmelioid *Burkholderia* species: antimicrobial resistance and therapeutic strategies. *Semin Respir Crit Care Med* 2015;36(1):99-110.
57. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Antimicrobial chemotherapy. In: Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology (26th ed), McGraw-Hill Medical, New York 2013, pp. 371-405.
58. Tadesse DA, Zhao S, Kumar A. Antimicrobial agent mechanisms of action and resistance. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G (eds), *Textbook of diagnostic microbiology* (5th ed) Elsevier, Missouri 2015, pp. 254-73.
59. Livermore DM, Mushtaq S, Warner M, Woodford N. Comparative *in vitro* activity of sulfametrole/trimethoprim and sulfamethoxazole/trimethoprim and other agents against multiresistant Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2014;69(4):1050-6.
60. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Antibacterial agents. In: *Medical Microbiology* (7th ed) Elsevier, Philadelphia 2013, pp. 165-73.
61. Leclercq R, Cantón R, Brown DF, et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect* 2013;19(2):141-60.
62. Huang YW, Lin CW, Hu RM, Lin YT, Chung TC, Yang TC. AmpN-AmpG operon is essential for expression of L1 and L2 beta-lactamases in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(6):2583-9.
63. Tille PM. Principles of antimicrobial action and resistance. In: *Bailey & Scott's diagnostic microbiology* (13th ed) Elsevier, Missouri 2014, pp. 153-67.
64. Antunes P, Machado J, Peixe L. Dissemination of *sul3*-containing elements linked to class 1 integrons with an unusual 3' conserved sequence region among *Salmonella* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(4):1545-8.

65. Grape M, Farra A, Kronvall G, Sundström L. Integrins and gene cassettes in clinical isolates of co-trimoxazole-resistant Gram-negative bacteria. Clin Microbiol Infect 2005;11(3):185-92.
66. Escudero JA, Loot C, Nivina A, Mazel D. The integron: adaptation on demand. Microbiol Spectr 2015;3(2):MDNA3-0019-2014.
67. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement (CLSI document M100-S24) Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA 2014.
68. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, 2016. <http://www.eucast.org>
69. Durmaz R. Moleküler epidemiyolojinin prensipleri. Durmaz R (editör), Uygulamalı moleküler mikrobiyoloji kitabında (2. baskı) Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2001, ss. 139-47.
70. Gerner-Smidt P, Hyytiä-Trees E, Rota P. Molecular epidemiology. In: Versalovic J, Carroll K, Funke G, Jorgensen J, Landry M, Warnock D (eds), Manual of clinical microbiology (10th ed) ASM Press, Washington, DC 2011, pp. 100-23.
71. Otlu B. Sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonlarda moleküler epidemiyoloji. XXXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 12-16 Kasım 2014, Konuşma özetleri ve bildirileri kitabında, ss. 107-10.
72. Durmaz B, Durmaz R. Pulsed-field gel electrophoresis. Durmaz R (editör), Uygulamalı moleküler mikrobiyoloji kitabında (2. baskı) Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2001, ss. 161-68.
73. Gherardi G, Creti R, Pompilio A, Di Bonaventura G. An overview of various typing methods for clinical epidemiology of the emerging pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. Diagn Microbiol Infect Dis 2015;81(3):219-26.
74. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995;33(9):2233-9.

75. Yağcı A. Restriction fragment length polymorphism ve polimeraz zincir reaksiyon bazlı tiplendirme yöntemleri. Durmaz R (editör), Uygulamalı moleküler mikrobiyoloji kitabında (2. baskı) Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2001, ss. 149-60.
76. Mahlen SD, Kumar A. Applications of molecular diagnostics. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G (eds), Textbook of diagnostic microbiology (5th ed) Elsevier, Missouri 2015, pp. 226-53.
77. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-seventh edition (CLSI document M7-A7) Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA 2006.
78. Dillon B, Thomas L, Mohmand G, Zelynski A, Iredell J. Multiplex PCR for screening of integrons in bacterial lysates. J Microbiol Methods 2005;62(2):221-32.
79. Kern MB, Klemmensen T, Frimodt-Møller N, Espersen F. Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of *sul* genes conferring sulphonamide resistance. J Antimicrob Chemother 2002;50(4):513-6.
80. Hammerum AM, Sandvang D, Andersen SR, et al. Detection of *sul1*, *sul2* and *sul3* in sulphonamide resistant *Escherichia coli* isolates obtained from healthy humans, pork and pigs in Denmark. Int J Food Microbiol 2006;106(2):235-7.
81. Hu LF, Chang X, Ye Y, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole mediated by acquisition of *sul* and *dfrA* genes in a plasmid-mediated class 1 integron. Int J Antimicrob Agents 2011;37(3):230-4.
82. Yao JD, Conly JM, Krajden M. Molecular typing of *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* by DNA macrorestriction analysis and random amplified polymorphic DNA analysis. J Clin Microbiol 1995;33(8):2195-8.
83. Schmitz FJ, Sadurski R, Verhoef J, Milatovic D, Fluit AC. Typing of 154 clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* by pulsed-field gel electrophoresis and determination of the *in vitro* susceptibilities of these strains to 28 antibiotics. J Antimicrob Chemother 2000;45(6):921-3.

84. Çaylan R, Yılmaz G, Sucu N ve ark. Bir üniversite hastanesinde nozokomiyal *Stenotrophomonas maltophilia* enfeksiyonları. Mikrobiyol Bul 2005;39(1):25-33.
85. Samonis G, Karageorgopoulos DE, Maraki S, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* infections in a general hospital: patient characteristics, antimicrobial susceptibility, and treatment outcome. PLoS One 2012;7(5):e37375.
86. Gales AC, Jones RN, Forward KR, Liñares J, Sader HS, Verhoef J. Emerging importance of multidrug-resistant *Acinetobacter* species and *Stenotrophomonas maltophilia* as pathogens in seriously ill patients: geographic patterns, epidemiological features, and trends in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-1999). Clin Infect Dis 2001;32 Suppl 2:S104-13.
87. del Toro MD, Rodríguez-Bano J, Herrero M, et al. Clinical epidemiology of *Stenotrophomonas maltophilia* colonization and infection: a multicenter study. Medicine (Baltimore) 2002;81(3):228-39.
88. Wu H, Wang JT, Shiau YR, et al. A multicenter surveillance of antimicrobial resistance on *Stenotrophomonas maltophilia* in Taiwan. J Microbiol Immunol Infect 2012;45(2):120-6.
89. Juhász E, Krizsán G, Lengyel G, Grósz G, Pongrácz J, Kristóf K. Infection and colonization by *Stenotrophomonas maltophilia*: antimicrobial susceptibility and clinical background of strains isolated at a tertiary care centre in Hungary. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2014;13:333.
90. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). Clin Microbiol Infect 2006;12(4):315-21.
91. Sader HS, Flamm RK, Jones RN. Tigecycline activity tested against antimicrobial resistant surveillance subsets of clinical bacteria collected worldwide (2011). Diagn Microbiol Infect Dis 2013;76(2):217-21.
92. Farrell DJ, Sader HS, Jones RN. Antimicrobial susceptibilities of a worldwide collection of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates tested against tigecycline and agents commonly used for *S. maltophilia* infections. Antimicrob Agents Chemother 2010;54(6):2735-7.

93. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalised with pneumonia in US and European hospitals: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2009-2012. *Int J Antimicrob Agents* 2014;43(4):328-34.
94. Zhanel GG, Adam HJ, Baxter MR, et al. Antimicrobial susceptibility of 22746 pathogens from Canadian hospitals: results of the CANWARD 2007-11 study. *J Antimicrob Chemother* 2013;68 Suppl 1:i7-22.
95. Walkty A, Adam H, Baxter M, et al. *In vitro* activity of plazomicin against 5,015 gram-negative and gram-positive clinical isolates obtained from patients in canadian hospitals as part of the CANWARD study, 2011-2012. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(5):2554-63.
96. Öngüt G, Özcan A, Kandişer A, Öğünç D, Çolak D, Gültekin M. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının E test ile araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 2005;19(4):425-8.
97. Tatman-Otkun M, Gürcan S, Ozer B, Aydoslu B, Bukavaz S. The antimicrobial susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates using three different methods and their genetic relatedness. *BMC Microbiol* 2005;5:24.
98. Zer Y, Karaoğlu İ, Çevik S, Erdem M. *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının irdelenmesi. *Klinik Dergisi* 2009;22(1):21-4.
99. Tanrıverdi Çaycı Y, Karadağ A, Yılmaz H, Yanık K, Günaydın M. *Stenotrophomonas maltophilia* klinik suşlarında antimikrobiyal direnç. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2013;43(1):22-5.
100. Güzelant A, Kaya M, Güvenç Hİ ve ark. Çeşitli klinik örneklerden beş yılda izole edilen *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının dağılımı ve antimikrobiyal duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2014;44(2):75-9.
101. Usta E, Eroğlu C, Yanık K, Karadağ A, Güney AK, Günaydın M. Klinik *Stenotrophomonas maltophilia* izolatlarında sınıf 1, 2, 3 integron varlığının ve antibiyotik direnci ile ilişkilerinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2015;49(1):35-46.
102. Blahna MT, Zalewski CA, Reuer J, Kahlmeter G, Foxman B, Marrs CF. The role of horizontal gene transfer in the spread of trimethoprim-sulfamethoxazole

- resistance among uropathogenic *Escherichia coli* in Europe and Canada. J Antimicrob Chemother 2006;57(4):666-72.
103. Chang LL, Chen HF, Chang CY, Lee TM, Wu WJ. Contribution of integrons, and SmeABC and SmeDEF efflux pumps to multidrug resistance in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. J Antimicrob Chemother 2004;53(3):518-21.
 104. Barbolla R, Catalano M, Orman BE, et al. Class 1 integrons increase trimethoprim-sulfamethoxazole MICs against epidemiologically unrelated *Stenotrophomonas maltophilia* isolates. Antimicrob Agents Chemother 2004;48(2):666-9.
 105. Chang LL, Lin HH, Chang CY, Lu PL. Increased incidence of class 1 integrons in trimethoprim/sulfamethoxazole-resistant clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. J Antimicrob Chemother 2007;59(5):1038-9.
 106. Huang YW, Hu RM, Lin YT, Huang HH, Yang TC. The contribution of class 1 integron to antimicrobial resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. Microb Drug Resist 2015;21(1):90-6.
 107. Song JH, Sung JY, Kwon KC, et al. Analysis of acquired resistance genes in *Stenotrophomonas maltophilia*. Korean J Lab Med 2010;30(3):295-300.
 108. Chung HS, Kim K, Hong SS, Hong SG, Lee K, Chong Y. The *sul1* gene in *Stenotrophomonas maltophilia* with high-level resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole. Ann Lab Med 2015;35(2):246-9.
 109. Kaur P, Gautam V, Tewari R. Distribution of class 1 integrons, *sul1* and *sul2* genes among clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* from a tertiary care hospital in North India. Microb Drug Resist 2015;21(4):380-5.
 110. Özkaya E, Aydın F, Bayramoğlu G, Buruk CK, Sandallı C. Klinik örneklerden izole edilen trimetoprim-sülfametoksazole dirençli *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarında integron, *sul1-2* ve *dfr* genlerinin araştırılması. Mikrobiyol Bul 2014;48(2):201-12.
 111. Shueh CS, Neela V, Hussin S, Hamat RA. Simple, time saving pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of *Stenotrophomonas maltophilia*. J Microbiol Methods 2013;94(2):141-3.

112. Pompilio A, Pomponio S, Crocetta V, et al. Phenotypic and genotypic characterization of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from patients with cystic fibrosis: genome diversity, biofilm formation, and virulence. BMC Microbiol 2011;11:159.
113. Tripkovic V, Müller-Premru M, Kalenic S, et al. Clustering of infections caused by different PFGE types of *Stenotrophomonas maltophilia* occurring simultaneously in a university hospital. J Hosp Infect 2001;47(4):333-5.
114. Valdezate S, Vindel A, Martín-Dávila P, Del Saz BS, Baquero F, Cantón R. High genetic diversity among *Stenotrophomonas maltophilia* strains despite their originating at a single hospital. J Clin Microbiol 2004;42(2):693-9.
115. Schaumann R, Laurin F, Rodloff AC. Molecular typing of clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* by pulsed-field gel electrophoresis and random primer PCR fingerprinting. Int J Hyg Environ Health 2008;211(3-4):292-8.
116. Marzuillo C, De Giusti M, Tufi D, et al. Molecular characterization of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from cystic fibrosis patients and the hospital environment. Infect Control Hosp Epidemiol 2009;30(8):753-8.
117. Neela V, Rankouhi SZ, van Belkum A, Goering RV, Awang R. *Stenotrophomonas maltophilia* in Malaysia: molecular epidemiology and trimethoprim-sulfamethoxazole resistance. Int J Infect Dis 2012;16(8):e603-7.
118. Flores-Treviño S, Gutiérrez-Ferman JL, Morfín-Otero R, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* in Mexico: antimicrobial resistance, biofilm formation and clonal diversity. J Med Microbiol 2014;63(Pt. 11):1524-30.
119. Köseoğlu Ö, Şener B, Gülmez D, Altun B, Gür D. *Stenotrophomonas maltophilia* as a nosocomial pathogen. New Microbiol 2004;27(3):273-9.
120. Köseoğlu Ö, Şener B, Gür D. Çocuk hastalardan izole edilen *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının moleküler epidemiyolojisi. Mikrobiyol Bul 2004;38(1-2):9-19.
121. Lin CW, Chiou CS, Chang YC, Yang TC. Comparison of pulsed-field gel electrophoresis and three rep-PCR methods for evaluating the genetic relatedness of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates. Lett Appl Microbiol 2008;47(5):393-8.

122. Church D, Lloyd T, Peirano G, Pitout J. Antimicrobial susceptibility and combination testing of invasive *Stenotrophomonas maltophilia* isolates. Scand J Infect Dis 2013;45(4):265-70.
123. Bojkova M, Markovska R, Stoeva T, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* in a Bulgarian university hospital over a 5-year period (2007-2012). Infect Dis (Lond) 2015;47(12):932-4.
124. Lanotte P, Cantagrel S, Mereghetti L, et al. Spread of *Stenotrophomonas maltophilia* colonization in a pediatric intensive care unit detected by monitoring tracheal bacterial carriage and molecular typing. Clin Microbiol Infect 2003;9(11):1142-7.
125. Barchitta M, Cipresso R, Giaquinta L, et al. Acquisition and spread of *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia* in intensive care patients. Int J Hyg Environ Health 2009;212(3):330-7.
126. Abbassi MS, Touati A, Achour W, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* responsible for respiratory infections in neonatal intensive care unit: antibiotic susceptibility and molecular typing. Pathol Biol (Paris) 2009;57(5):363-7.
127. Ece G, Erac B, Limoncu MH, Baysak A, Oz AT, Ceylan KC. *Stenotrophomonas maltophilia* pseudo-outbreak at a university hospital bronchoscopy unit in Turkey. West Indian Med J 2014;63(1):59-61.
128. Waite TD, Georgiou A, Abrishami M, Beck CR. Pseudo-outbreaks of *Stenotrophomonas maltophilia* on an intensive care unit in England. J Hosp Infect 2016;92(4):392-6.

T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Ömür Mustafa PARKAN'a ait “Klinik *Stenotrophomonas maltophilia* İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılığı ve Moleküler Epidemiyolojisi” adlı çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 22.08.2016

İmza

Başkan : Prof. Dr. Hüseyin Kılıç (Danışman)



Üye : Prof. Dr. Deniz Gür



Üye : Doç. Dr. Ayşegül Ulu Kılıç

