

Kistik Fibrozisli Pediatrik Hastaların Solunum Yolu Ardışık Kronik *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Antibiyotik Duyarlılık Profili ve Biyofilm Varlığı

Antibiotic Susceptibility Profile and Biofilm Formation in Sequential Chronic *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Pediatric Patients with Cystic Fibrosis

Öznur GÜRPINAR TOSUN(ID), Özgen KÖSEOĞLU ESER(ID)

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Türkiye.

*Bu çalışmanın bir bölümü, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TSA-2021-19346 proje numarası ile desteklenmiştir.

**Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TSA-2021-19346 proje numarası ile desteklenen Orpheus etiketli doktora tezinin bir bölümüdür.

Makale Atfı: Gürpınar Tosun Ö, Köseoğlu Eser Ö. Kistik fibrozisli pediatrik hastaların solunum yolu ardışık kronik *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında antibiyotik duyarlılık profili ve biyofilm varlığı. Mikrobiyol Bul 2025;59(2):145-157.

ÖZ

Kistik fibrozis (KF), solunum yollarında yoğun mukus birikimi nedeniyle kronik enfeksiyonlara yol açan genetik bir hastalıktır. *Pseudomonas aeruginosa*, KF hastalarında sık rastlanan ve uzun süreli enfeksiyonlara ve kolonizasyona neden olan önemli bir patojendir. Bu çalışma, KF çocuk hastalarının solunum yolu örneklerinden ardışık olarak elde edilen *P.aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profillerinin ve biyofilm oluşturma yeteneklerinin karşılaştırılmasını amaçlamıştır. Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi KF Ünitesinde 2021-2023 yılları arasında prospektif olarak takip edilen KF hastalarından (n= 80) alınan solunum yolu örneklerinde üreyen ardışık kronik *P.aeruginosa* izolatları incelenmiştir. Bakteri tür tanımlaması MALDI-TOF MS ile yapılmış ve konvansiyonel yöntemlerle doğrulanmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri EUCAST önerileri doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon ve gradient test yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Antibiyotik direnç genleri (*bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC}) polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle incelenmiştir. Biyofilm oluşumu, kristal viyole mikrotitrasyon plak yöntemiyle değerlendirilmiştir. Kistik fibrozis hastalarında eşlik eden en sık sistemik bulgu ekzokrin pankreas yetmezliği (n= 58) ve bronşektazi (n= 44) olarak saptanmıştır. *P.aeruginosa* dışında 56 hastada başka bir etkenin daha ürettiği [metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (n= 46), metisiline dirençli *S.aureus* (n= 31), *Acinetobacter* spp. (n= 2) ve tüberküloz dışı mikobakteri (n= 2)] saptanmıştır. Bu çalışmada, izolatların antibiyotik direnci seftazidime en yüksek (%3.75), kolistine en düşük (%1.25) bulunmuştur. Tobramisin, meropenem ve levofloksasine direnç %2.5 olarak saptanırken, siprofloksasine direnç tespit edilmemiştir. Antibiyotik direnç genleri açısından en sık saptanan gen *bla*_{VIM} olup ilk izolatlarda %12.5, sonraki izolatlarda ise %10 oranında belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen izolatların hiçbirinde *bla*_{KPC}, *bla*_{IMP} ve *bla*_{NDM} direnç genleri saptanmamıştır. Biyofilm oluşumu değerlendirildiğinde, ilk izolatların %77.5'inde, sonraki ardışık 80 izolatın 59 (%73.7)'unda kantitatif olarak biyofilm oluşumu gösterilmiştir. İzolatların 11 (%18.6)'inin

güçlü pozitif, 33 (%55.9)'ünün orta pozitif ve 15 (%25.4)'inin zayıf pozitif biyofilm oluşturduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, *P.aeruginosa*'nın KF hastalarında yüksek biyofilm oluşturma kapasitesine sahip olduğu belirlenirken antibiyotik tedavisinin mikroorganizmanın eradikasyonunda etkin rol oynamadığı saptanmıştır. Bu çalışma, ardışık izolatların biyofilm yapımı ve antibiyotik direnç paternlerinde anlamlı değişiklikler göstermediğini ortaya koymuştur. Benzer antibiyotik duyarlılık ve biyofilm yapımı gösteren ardışık *P.aeruginosa* izolatlarında bakterinin yok edilmesi için antibiyofilm duyarlılık testlerinin yapılması ve yeni antibiyofilm tedavi stratejilerinin geliştirilmesi önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: Kistik fibrozis; *Pseudomonas aeruginosa*; antibiyotik duyarlılığı; antibiyotik direnç genleri; biyofilm.

ABSTRACT

Cystic fibrosis (CF) is a genetic disorder that causes chronic infections due to the buildup of thick mucus in the airways. *Pseudomonas aeruginosa* is a common and significant pathogen in CF patients, contributing to long-term infections and colonization. This study aimed to evaluate and compare the antibiotic susceptibility patterns and biofilm-forming capacities of sequential *P.aeruginosa* isolates recovered from respiratory tract specimens of pediatric cystic fibrosis (CF) patients. Sequential chronic *P.aeruginosa* isolates (n= 80) were obtained from respiratory samples of CF patients who were prospectively monitored at the Hacettepe University İhsan Doğramacı Children's Hospital CF Unit between 2021 and 2023. Identification of the bacteria to the species level was performed using MALDI-TOF MS and confirmed by conventional methods. Antibiotic susceptibility testing was conducted by broth microdilution and gradient test methods according to EUCAST recommendations. Antibiotic resistance genes (*bla_{VIM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{NDM}*, *bla_{KPC}*) were investigated by PCR. Biofilm formation was evaluated using the crystal violet microtiter plate assay. The most frequently observed systemic manifestations accompanying CF were exocrine pancreatic insufficiency (n= 58) and bronchiectasis (n= 44). In addition to *P.aeruginosa*, co-isolation of other pathogens was detected in 56 patients, including methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (n= 46), methicillin-resistant *S.aureus* (n= 31), *Acinetobacter* spp. (n= 2), and nontuberculous mycobacteria (n= 2). The highest antibiotic resistance rate among *P.aeruginosa* isolates was observed against ceftazidime (3.75%), while the lowest resistance was detected against colistin (1.25%). Resistance to tobramycin, meropenem, and levofloxacin was identified at a rate of 2.5%, whereas no resistance to ciprofloxacin was detected. The most prevalent antibiotic resistance gene was *bla_{VIM}*, detected in 12.5% of the initial isolates and 10% of the subsequent isolates. None of the isolates harbored *bla_{KPC}*, *bla_{IMP}* or *bla_{NDM}* genes. Biofilm formation was observed in 77.5% of the initial isolates and 73.7% of the subsequent isolates. Quantitative analysis revealed biofilm formation in 59 (73.7%) of the 80 sequential isolates, with 11 (18.6%) classified as strong biofilm producers, 33 (55.9%) as moderate biofilm producers and 15 (25.4%) as weak biofilm producers. In conclusion, our results indicate that *P.aeruginosa* isolates exhibited a high biofilm formation capacity in CF patients, while antibiotic treatment played a limited role in bacterial eradication. The study revealed that sequential isolates did not demonstrate significant alterations in biofilm production or antibiotic resistance patterns over time. The persistence of *P.aeruginosa* isolates with similar antibiotic susceptibility and biofilm formation capacities in CF patients underscores the necessity of performing anti-biofilm susceptibility testing and developing novel anti-biofilm therapeutic strategies to improve bacterial eradication.

Keywords: Cystic fibrosis; *Pseudomonas aeruginosa*; antibiotic susceptibility; antibiotic resistance genes; biofilm.

GİRİş

Kistik fibrozis (KF), birçok epitel hücrelerinde ve kan hücresinde eksprese edilen, yedinci kromozomun uzun kolunda yer alan kistik fibrozis transmembran regülatör (KFTR) proteinini kodlayan gendeki mutasyondan kaynaklanmaktadır. KF ilişkili semptomlar yaşam boyu ortaya çıkmakta ve semptomlar hastadan hastaya değişkenlik göstermektedir.

KF'li bebeklerin %85-90'ında doğumda mevcut olabilen veya yaşamın ilk yılında gelişebilen pankreas yetmezliği ortaya çıkar¹. KFTR proteini; solunum yolu, gastrointestinal sistem, karaciğer, pankreas ve üreme sistemi dahil olmak üzere vücudun çeşitli organlarında bulunur. Solunum yollarında bu proteinin fonksiyonunun bozulmuş olması, mukosiliyer sistem tarafından temizlenemeyen mukus kalınlığının artmasına neden olur. Bu durum, solunum yollarında kronik enfeksiyona ve sonrasında düzensiz enflemasyona yol açmaktadır². KF'li hastalarda yaşamları boyunca yaşa bağlı şekilde farklılık gösteren mikroorganizma türleriyle tekrarlayan enfeksiyonlar görülür. *Staphylococcus aureus* genellikle küçük yaşlarda saptanırken; *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Burkholderia cepacia* kompleksi türleri çocuklarda ve yetişkinlerde yaygın olarak görülmektedir. Her ne kadar bu bakteriler klasik KF solunum yolu patojenleri olarak kabul edilse de bu hastalarda mikobakteri, mantar ve viral enfeksiyonların önemi ve patojenitesi giderek artmaktadır³.

KF'li hastaların solunum yolları, üremeleri için son derece uygun ortama sahip olması nedeniyle bu hastalarda *P.aeruginosa* en sık görülen gram-negatif patojendir. *P.aeruginosa* oksidaz pozitif, laktozu fermente etmeyen bir basil olup anoksik koşullar altında (KF akciğeri dahil) terminal elektron alıcısı olarak nitrit veya nitratı kullanma yeteneğine sahiptir. Başlangıçta *P.aeruginosa*, KF'li hastalarda konak tarafından temizlenebilen veya antibiyotik tedavisiyle ortadan kaldırılabilen mukoid olmayan bir suş olarak üremektedir⁴. Zamanla *P.aeruginosa* kolonileri aljinat sentezleyerek biyofilmler oluştururlar⁵. Bu biyofilmler oluştuktan sonra standart antibiyotik tedavisiyle ortadan kaldırılmaları zor olduğundan, patojenin uzun süreli oral kinolon tedavisiyle birlikte veya tek başına nebülize kolistin/inhale tobramisin kullanımı yoluyla direnç artışına neden olmaksızın akciğerlerden eradike edilmesine yönelik stratejiler bulunmaktadır⁴. Genel olarak, *P.aeruginosa*'nın antibiyotiklere karşı başlıca direnç mekanizmaları; intrinsik, kazanılmış ve adaptif direnç olarak sınıflandırılabilir. *P.aeruginosa*'nın intrinsik direnci diğer gram-negatif bakterilere kıyasla doğal rezistom üzerinde çok etkilidir. İntrinsik dirence neden olan mekanizmalar; indüklenebilir AmpC sefalosporin ekspresyonu gibi antibiyotikleri inaktive eden enzimlerin sentezlenmesi, temel (MexAB-OprM) ve indüklenebilir (MexXY) dışa atım pompası üretimi ve düşük dış membran geçirgenliğidir⁶. Kazanılmış direnç, direnç genlerinin yatay transferi veya mutasyonel değişiklikler yoluyla elde edilmektedir. *P.aeruginosa*'nın adaptif direnci ise, enfekte hastaların akciğerlerinde biyofilm oluşumu yoluyla ortaya çıkmaktadır⁷. Ayrıca, biyofilm oluşumu sırasında çoklu ilaç toleransına sahip persister hücreler oluşabilir; bu hücreler KF hastalarında uzun süreli ve tekrarlayan enfeksiyonlardan sorumludur⁸.

Biyofilm, canlı veya cansız bir yüzeyde birbirine yapışan ve ekzopolisakkarit, protein, metabolit ve hücre dışı DNA dahil olmak üzere hücre dışı polimerik maddelerin kendi kendine ürettiği bir matris içine gömülü olan mikroorganizmalar topluluğudur. Biyofilmlerde üreyen mikrobiyal hücreler, antimikrobiyal ilaçlara ve sıvı süspansiyonda üreyen hücrelere göre konağın immün yanıtına daha az duyarlıdır⁹. *P.aeruginosa*, KF'li hastaların akciğerlerinde kronik enfeksiyonlara neden olurken DNA, protein ve ekzopolisakkaritlerin üretimi ile akciğer epitel hücre yüzeylerinde biyofilm oluşturur^{10,11}.

Bu çalışmada, KF'li hastaların enfeksiyon nedeniyle hastaneye yaptıkları ilk başvuru-
dan sonra ikinci ve üçüncü kez rutin hastane ziyaretleri sırasında alınan solunum yolu
örneklerinde üreyen ardışık *P.aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılık ve biyofilm
üretiminin incelenmesi, ayrıca KF'li hastaların ilk kontrollerinde tespit edilen *P.aeruginosa*
izolatları ile takip eden süreçte üreyen bu izolatların karşılaştırması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu onayı
(Tarih: 30.03.2021 ve Karar No: 2021/07-11) ile gerçekleştirildi.

Çalışma Popülasyonu ve Bakteri İzolatları

Prospektif olarak yürütülen bu çalışmaya, Ocak 2021-Mayıs 2023 tarihleri arasında
Hacettepe Çocuk Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniğinde takip edilmekte olan KF has-
talarında hem hastalık nedeniyle hem de rutin takipleri sırasında yapılan hastane ziya-
retlerinde alınan solunum yolu örneklerinde (boğaz sürüntüsü, balgam, bronkoalveoler
lavaj) ardışık üreyen ikinci ve üçüncü *P.aeruginosa* izolatları dahil edildi.

Hasta ve klinik örneklerle ait demografik özellikler (ortalama yaş, cinsiyet, hastaların
izlem süresi, vücut kitle indeksi, örnek tipi) ve risk faktörleri [eşlik eden diğer hastalık tanı-
sı (diyabet vb.)], *P.aeruginosa* ile birlikte üremiş olan farklı mikroorganizmalar) çalışmaya
alınan her hasta için hazırlanan hasta bilgi formuna ileriye dönük olarak doldurularak
kayıt altına alındı.

P.aeruginosa'nın tür tanımlaması, matris ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon
uçuş zamanı kütle spektrometresi [matrix assisted laser desorption ionization-time of
flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)] (MALDI Biotyper Bruker Daltonics, Bremen,
Almanya) sistemiyle gerçekleştirildi. Tüm izolatlarda tür düzeyinde tanımlama, Hacette-
pe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında konvansiyonel yöntem-
lerle {Gram boyama, oksidaz testi ve üç şekerli demirli besiyerine [triple sugar iron (TSI)
agar] ekim} tekrar çalışılarak Gram boyamada gram-negatif basil görünümünde olan, TSI
besiyerinde tüm besiyerini kırmızı renge dönüştüren ve oksidaz testi pozitif olan izolat-
lar *P.aeruginosa* olarak tanımlandı. Çalışmanın başlangıcından itibaren tüm *P.aeruginosa*
izolatları, tür düzeyinde tanımlanması ve doğrulanmasının ardından -20 °C'de gliserollü
triptik soy buyyon içinde stoklanarak saklandı.

Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Antibiyotik duyarlılık testleri European Committee on Antimicrobial Susceptibility
Testing (EUCAST) önerileri doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve gradiyent testle
gerçekleştirildi. İzolatların antimikrobiyal duyarlılık testleri için EUCAST önerilerine göre
hazırlanan Mueller-Hinton buyyon (MHB) (Sigma Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri) ve
Mueller-Hinton agar (MHA) (BD, ABD) besiyerleri kullanıldı. Çalışmada sıvı mikrodilüsyon
yöntemi için tobramisin [minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) aralığı= 0.016-256
mg/L], meropenem (MİK aralığı= 0.002-32 mg/L), seftazidim (MİK aralığı= 0.016-256
mg/L), levofloksasin (MİK aralığı= 0.002-32 mg/L), kolistin sülfat (MİK aralığı= 0.125-

256 mg/L) ve siprofloksasin (MİK aralığı= 0.002-32 mg/L) antibiyotik tozları kullanıldı. Antibiyotik gradiyent test yöntemi için piperasilin-tazobaktam gradiyent şeritleri kullanıldı. Kontrol suşu olarak *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşu kullanıldı.

Genomik DNA Eldesi

Nükleik asit izolasyonu kaynatma yöntemiyle gerçekleştirildi. Kanlı agara tek koloni ekim yöntemiyle ekilen izolatlar bir gece 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından süspansiyon, 15 dakika 3000 rpm'de santrifüj edilerek üstte kalan sıvı uzaklaştırıldı. Çöktelti üzerine 1 ml Tris/EDTA (TE) tampon çözeltisi eklenerek vortekslenildi ve süspansiyon tekrar bir dakika 10000 rpm'de santrifüj edilerek üstteki sıvı uzaklaştırıldı¹⁰. TE ile yıkama işlemi en az üç kez tekrarlandı. Son yıkamadan sonra üstteki sıvı atılarak çökteltiye 100 µl TE tampon çözeltisi eklendi ve mikrosantrifüj tüpleri ısı bloğunda 20 dakika 100 °C'de bekletildi. Bu işlemi takiben bir dakika santrifüj edilen tüplerde bulunan üstteki sıvı çökteltiye dokunmadan yeni bir steril mikrosantrifüj tüpüne alındı ve elde edilen DNA, ileri moleküler testlerin uygulanması aşamasına kadar -20 °C'de saklandı.

Antimikrobiyal Direnç Genlerinin Araştırılması

Çalışmaya dahil edilen tüm izolatlar *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} ve *bla*_{KPC} genleri bakımından polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] kullanılarak ısı döngü cihazı (Global Genomics Partner, MyGenie96, ABD) ile gerçekleştirildi (Tablo I). Amplifikasyon; 10 dakika 94 °C'de ilk denatürasyon gerçekleştirildikten sonra; toplam 36 döngü denatürasyon 94 °C'de 30 saniye, primer birleşmesi 55 °C'de 40 saniye ve amplifikasyon 72 °C'de 50 saniye olacak şekilde programlandı. Amplifikasyonun sonunda 72 °C'de beş dakika son uzamanın ardından reaksiyon sonlandırıldı¹².

Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünlerinin her birinden 10 µl alındı ve 10 µl orange G yükleme tamponu ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi. Moleküler ağırlık belirteci olarak 100 baz çifti [base pair (bp)] ladder (New England Biolabs Inc., Ipswich, MA, ABD) kullanıldı. Yürütme işlemi 120 voltta 120 dakika sürede gerçekleştirildi. Amplifikasyon ürünlerinin varlığı jelde BioSpectrum 500 imaging system (UVP, Cambridge, Birleşik Krallık) ile ultraviyole ışık altında incelendi.

Tablo I. Antimikrobiyal Direnç Genleri Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri

Gen Bölgesi	Oligonükleotit Dizisi	Gen Büyüklüğü (bp)
<i>bla</i> _{NDM}	F- 5'- GGT TTG GCG ATC TGG TTT TC- 3'	621
	R- 5'- CCG AAT GGC TCA TCA CGA TC- 3'	
<i>bla</i> _{KPC}	F- 5'- CGT CTA GTT CTG CTG TCT TG- 3'	798
	R- 5'- CTT GTC ATC CTT GTT AGG CG- 3'	
<i>bla</i> _{VIM}	F- 5'- GCA CTT CTC GCG GAG AT- 3'	390
	R- 5'- ACT GGA CCG AAG CGC ACT G- 3'	
<i>bla</i> _{IMP}	F- 5'- CTA CCG CAG CAG AGT CTT TG- 3'	232
	R- 5'- AAC CAG TTT TGC CTT ACC AT- 3'	

Biyofilm Yapımının Kristal Viyole Yöntemiyle Ölçümü (Mikrotitrasyon Plak Yöntemi)

Hastalardan izole edilen tüm klinik izolatlar triptik soy buyyon (TSB) içeren tüplerde bir gece inkübe edildikten sonra, inokulum son konsantrasyonları 106 CFU/mL olacak şekilde ayarlandı. Bakteri süspansiyonları her bir kuyucukta 100 µl hacimde 96 kuyucuklu mikropklara eklendi ve 37 °C'de 24 saat süreyle inkübatörde bekletilerek bakterilerin kuyucuklara tutunmaları sağlandı. Kuyucuklar 24 saat sonunda steril distile suyla üç kez yıkandı ve mikropklaklar oda sıcaklığında bekletilerek kurumaları sağlandı. Süre sonunda her bir kuyucuğa 140 µl %1'lik kristal viyole çözeltisi eklenerek 15 dakika beklendi. Kuyucuklarda bulunan kristal viyole çözeltisinin uzaklaştırılıp yıkama yapılmasının ardından tüm kuyucuklara etanol-aseton çözeltisinden eklendi ve 15-20 dakika oda sıcaklığında beklendi. Her bir kuyucuktaki örnekler absorban değeri OD590 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek izolatların biyofilm oluşturma düzeyleri belirlendi¹³. Bu yöntemde, *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşu pozitif kontrol olarak kullanıldı. Optik dansite sınır değeri (ODc), negatif kontrolün OD değeri ortalamasının üzerinde üç standart sapma [standard deviation (SD)] olarak belirlendi: ODc= negatif kontrolün ortalama OD'si + (3 x SD negatif kontrol). Sonuçlar optik dansitelere göre; güçlü biyofilm oluşumu (4 x ODc <OD), orta düzeyde biyofilm oluşumu (2 x ODc < OD ≤ 4 x ODc); zayıf biyofilm oluşumu (ODc <OD ≤ 2 x ODc); ve biyofilm olmayan (OD ≤ODc) olarak değerlendirildi.

BULGULAR

2021-2023 yılları arasında ikinci ve üçüncü kez rutin kontroller sırasında alınan solunum yolu örneklerinde üreyen ardışık *P.aeruginosa* izole edilen toplam 80 KF'li çocuk hastanın, 48 (%60)'inin kız, 32 (%40)'sinin erkek olduğu belirlenmiştir. KF'li hastaların ortalama yaşı 10.5 olarak bulunmuştur. Hastaların ortanca vücut kitle indeksi 15.2 olarak saptanmıştır. Hastaların hepsinin izlem süresi bir yıldan fazladır. Hastaların 13'ünde orofarengeal sürüntü örneğinde, 67 hastanın balgam kültüründe *P.aeruginosa* izole edilmiştir. Hastalığa eşlik eden sistemik bulgular değerlendirildiğinde en sık ekzokrin pankreas yetmezliği (EPY) (n= 58) ve bronşektazi (n= 44) saptanmış, 25 hastada malnutrisyon, 22 hastada kronik karaciğer hastalığı, 15 hastada alerjik bronkopulmoner aspergillozis ve beş hastada osteoporoz olduğu belirlenmiştir. *P.aeruginosa* dışında 56 hastada başka bir etken daha üremiş; en sık 46 hastada metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) üremesi tespit edilirken, 31 hastada metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA), iki hastada *Acinetobacter* spp. ve bir hastada tüberküloz dışı mikobakteri üremesi saptanmıştır. Üç hastada aynı örnekte ilkinden farklı bir *P.aeruginosa* koloni tipi (KF2) saptanmıştır.

Hastalardan elde edilen ardışık izolatlar a ait Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre en yüksek direnç, seftazidime karşı görülürken (n= 3, %3.75) bunu tobramisin, meropenem ve levofloksasin (n= 2, %2.5) takip etmiştir. En düşük direnç ise kolistine (n= 1, %1.25) karşı tespit edilmiştir. Siprofloksasin direnci hiçbir izolatta belirlenmemiştir (Tablo II). Toplam 80 KF'li çocuk hastanın ilk rutin hastane ziyaretleri sırasında elde edilen *P.aeruginosa* izolatlarında da en yüksek direnç seftazidime karşı saptanmıştır (n= 3, %3.75). Hastaların ilk izolatlarında tobramisin direnci ve meropenem direnci

(n= 2, %2.5) düşük oranda tespit edilmişken en düşük direnç kolistine (n= 1, %1.25) karşı saptanmıştır. Levofloksasin direnci hiçbir izolatta tespit edilememiştir (Tablo III). Çalışmaya dahil edilen 80 KF'li çocuk hastanın ilk rutin hastane ziyaretleri sırasında saptanan *P.aeruginosa* izolatlarında siprofloksasine karşı antibiyotik duyarlılığı çalışılamamıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan ardışık olarak solunum yolu örneklerinden elde edilen *P.aeruginosa* izolatlarında en sık saptanan antimikrobiyal direnç geni *bla_{VIM}* (n= 8, %10) olmuştur. Hastaların ilk izolatlarında da benzer şekilde en sık saptanan antimikrobiyal direnç geni *bla_{VIM}* (n= 10, %12.5) olmuştur. Çalışmaya dahil edilen izolatların hiçbirisinde *bla_{KPC}*, *bla_{IMP}* ve *bla_{NDM}* direnç genleri saptanmamıştır.

Biyofilm tespiti için gerçekleştirilen mikrotitrasyon plak yönteminde; 37 °C'de 24 saatlik inkübasyonun ardından kristal viyoleytle boyama sonrasında absorbans ölçümleri yapılarak ilk izolatların biyofilm yapımı değerlendirildiğinde, negatif kontrole göre yapılan ölçümlerde 80 izolatın 59 (%73.8)'unda biyofilm oluşumu kantitatif olarak gösterilmiştir. İzolatların 11 (%18.6)'inin güçlü pozitif, 33 (%55.9)'ünün orta pozitif ve 15 (%25.4)'inin zayıf pozitif biyofilm oluşturduğu saptanmıştır. Yirmi bir (%26.2) *P.aeruginosa* izolatı ise biyofilm oluşturmamıştır (Şekil 1). Ardışık olarak izole edilen örneklerin biyofilm yapımı açısından yapılan değerlendirmesinde, negatif kontrole göre yapılan ölçümde 80 izolatın 62 (%77.5)'sinde biyofilm oluşumu kantitatif olarak gösterilmiştir. Bunların 11 (%17.7)'inin güçlü pozitif, 33 (%53.2)'ünün orta pozitif ve 18 (%29)'inin zayıf pozitif biyofilm oluşturduğu saptanmıştır (Şekil 2).

Tablo II. Kistik Fibrozisli Çocuk Hastaların *P.aeruginosa* Ardışık İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları (n= 80)

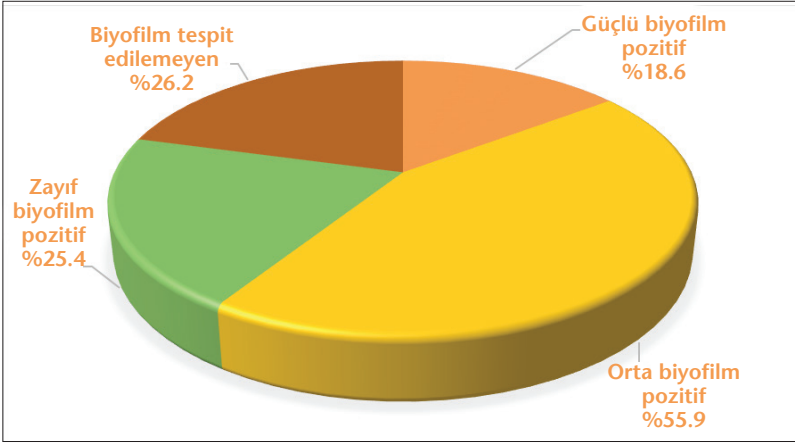
Antimikrobiyal ilaç	MİK ₅₀ (µg/mL)	MİK ₉₀ (µg/mL)	MİK Aralığı (µg/mL)	Direnç n (%)
Seftazidim	2	4	0.001-4	3 (3.75)
Tobramisin	0.5	2	0.125-64	2 (2.5)
Meropenem	0.25	0.5	0.06-128	2 (2.5)
Levofloksasin	0.25	1	0.001-8	2 (2.5)
Kolistin	0.5	2	0.06-128	1 (1.25)
Siprofloksasin	0.25	0.5	0.001-0.5	0

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon.

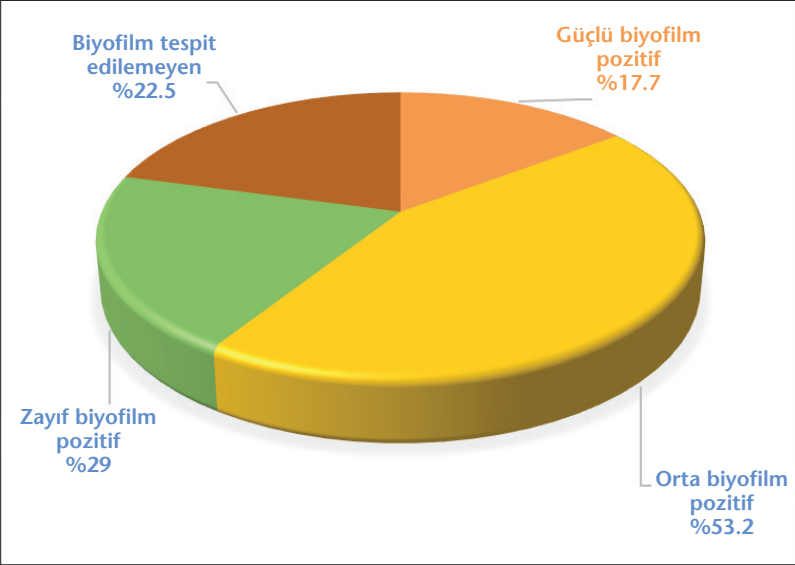
Tablo III. Kistik Fibrozisli Çocuk Hastaların *P.aeruginosa* İlk İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları (n= 80)

Antimikrobiyal ilaç	MİK ₅₀ (µg/mL)	MİK ₉₀ (µg/mL)	MİK Aralığı (µg/mL)	Direnç n (%)
Seftazidim	2	4	0.001-8	3 (3.75)
Tobramisin	0.5	1	0.125-64	2 (2.5)
Meropenem	0.25	0.5	0.06-64	2 (2.5)
Kolistin	1	2	0.06-64	1 (1.25)
Levofloksasin	0.5	1	0.001-1	0

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon.



Şekil 1. Kistik fibrozisli çocuk hastaların *P.aeruginosa* ilk izolatlarının biyofilm oluşturma özelliklerinin dağılımı (n= 80).



Şekil 2. Kistik fibrozisli çocuk hastaların *P.aeruginosa* ardışık izolatlarının biyofilm oluşturma özelliklerinin Dağılımı (n= 80).

TARTIŞMA

P.aeruginosa, kistik fibrozisli hastaların solunum yollarının viskoz yapısı nedeniyle bu hasta grubunda sıklıkla enfeksiyona yol açan bir patojendir. *P.aeruginosa*, fakültatif bir metabolizmaya sahip olduğu için hem aerobik hem de mikroaerofilik ortamlarda üreyebilir. Bu özellik, düşük oksijenli KF'li hastalarının akciğerlerinde bakterinin hayatta kalmasını kolaylaştırmaktadır¹⁴.

KF'li hastalarda sıklıkla akciğer enfeksiyonlarına neden olan *P.aeruginosa*, genellikle solunum yolu örneklerinden izole edilmektedir. *P.aeruginosa*'nın izolasyonu için en yaygın örnek tipi balgam örneğidir. Emerson ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada¹⁵, KF'li hastalardan alınan balgam örneklerinin *P.aeruginosa* izolasyonu için altın standart olduğu vurgulanmıştır. Klinik duruma göre, balgam örneği veremeyen KF'li hastalarda kullanılan invaziv olmayan alternatif klinik örnek ise orofarengeal sürüntü örneğidir. Ramsey ve arkadaşları¹⁶, balgam çıkaramayan hastalarda orofarengeal sürüntü örneklerinin *P.aeruginosa* ve *S.aureus*'un tespitinde pozitif prediktif değerini yüksek bulmuştur. Bu çalışmada da isolatların sadece %16.25'i balgam örneklerinden, %83.75'i orofarengeal sürüntüden izole edilmiştir.

KF, çeşitli organ sistemlerini etkileyen multisistemik bir hastalıktır. Özellikle akciğer, gastrointestinal sistem ve endokrin organlar başta olmak üzere birçok sistemde ciddi bulgulara yol açmaktadır. KF'li hastalarda gastrointestinal sistem bozukluğu olan EPY oldukça yaygındır. 2021 yılında yayımlanmış olan bir derleme, KF'li çocuk hastaların %85-90'ında pankreasın ekzokrin fonksiyonlarının bozulduğunu göstermektedir. Ayrıca pankreas enzimlerinin yetersiz üretimi nedeniyle malabsorbsiyon, steatore (yağlı dışkı) ve vitamin eksikliklerine yol açtığını bildirmektedir¹⁷. 2023 yılında yayımlanmış olan başka bir derlemede de KF'li çocukların %85'inde pankreas yetersizliğinin varlığı vurgulanmaktadır¹⁸. Bu çalışmada da 80 hastanın 58'inde ekzokrin pankreas yetmezliği tespit edilmiştir. KF'li hastaların büyük çoğunluğu, artmış mukus vizkozitesi nedeniyle kronik bakteriyel enfeksiyonlara maruz kalmaktadır. Bu durum bronşektazi ve solunum yetmezliğine yol açabilir. Tayvan'da yapılan bir araştırmaya göre KF'li hastaların %80-90'ında akciğerlerde bronşektazi bulguları saptanmıştır¹⁹. Lu Wang ve arkadaşlarının 2024 yılında yayımlanmış olduğu bir meta-analizde²⁰, bu hasta grubunda bronşektazi prevalansı %80-90 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada da 80 hastanın 44 (%55)'ünde bronşektazi varlığı tespit edilmiştir. EPY, KF'nin en yaygın komplikasyonlarından biridir ve genellikle pankreas enzim replasman tedavisiyle yönetilmektedir. Bu, hastaların solunum fonksiyonlarını ciddi şekilde etkilemekte ve tedavi edilmezse hastalığın ilerlemesine yol açabilmektedir.

KF'li hastalarda *P.aeruginosa*'nın yanı sıra başka mikroorganizmalar da kolonize olarak enfeksiyona neden olmaktadır. Özellikle genç ve çocuk yaştaki KF'li hastalarda *S.aureus* etken olarak yaygındır. 2016 yılında yayımlanmış olan bir makalede, MSSA'nın özellikle genç hastalarda yaygın olduğu ve genel prevalansının %50'ye kadar ulaştığı bildirilmiştir. MRSA ise daha az görülmekle birlikte prevalansı Amerika Birleşik Devletleri'nde %25 civarındadır. Avrupa'da ise bu oran %3 ile %10 arasında değişiklik göstermektedir. MRSA enfeksiyonları genellikle daha ciddi klinik sonuçlarla ilişkilidir ve tedavisi daha zordur^{11,21}. Çalışmaya dahil olan hastaların daha önceden %57.5'inde MSSA, %38.75'inde MRSA ile enfekte oldukları tespit edilmiştir.

KF'li hastalarda *P.aeruginosa*'nın antibiyotik direnç oranları önemli bir sorundur. Farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda direnç oranları değişiklik göstermektedir. 2023 yılında yayımlanmış olan bir derlemede, özellikle KF'li hastalardan elde edilen *P.aeruginosa* isolatlarının beta-laktamlara karşı önemli ölçüde direnç gösterdiği ve meropenem, aztreonam

ve seftazidim gibi antibiyotiklere direncin genellikle %30-40 oranlarında yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir²². KF'li hastalardaki *P.aeruginosa* izolatlarının seftazidime karşı direnç oranları bölge ve hasta popülasyonuna göre değişmektedir. Ramsay ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada²³, *P.aeruginosa* izolatlarının seftazidime karşı direnç oranlarının %30-50 arasında olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada sadece üç izolatta seftazidim direnci görülmüştür. Bu durum, merkezimizde seftazidime direncin düşük olduğunu göstermektedir.

Tobramisin ve kolistin gibi inhalasyon yoluyla uygulanan antibiyotiklere karşı direnç de belirgindir. Bir çalışmaya göre, *P.aeruginosa* izolatlarında tobramisin direnç oranları KF'li hastalarda %20-40 arasında değişmektedir. Bu direnç, kronik enfeksiyonlar ve uzun süreli antibiyotik kullanımı nedeniyle gelişmekte ve tedavi stratejilerini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, alternatif tedavi seçenekleri veya kombinasyon tedavileri gerekebilmektedir²⁴. Bu çalışmada direnç oranı düşük olup, aynı hastanın ardışık olarak elde edilen iki izolatında tobramisin direnci tespit edilmiştir. KF'li hastalarda *P.aeruginosa* tedavisi için inhaler tobramisin ve oral siprofloksasin sonrası kullanılan ikinci seçenek ilaç inhaler kolistin ve/veya oral kolistindir. Narimisa ve arkadaşları tarafından Ekim 2024 tarihinde yayımlanmış olan bir meta-analizde²⁵, 32 ülkede kolistin için *P.aeruginosa*'nın direnç oranları incelenmiştir. Bu çalışmaya göre, Mısır (%15) ve Pakistan (%13)'ün kolistin direncine en yüksek oranda sahip olduğu bildirilmiştir. Sistematik derlemede incelenen makalelerin yayın yılına göre yapılan alt grup meta-analizlerinde, *P.aeruginosa*'nın kolistine direnç oranı 2006-2010 arası dönemde %2 iken, bu oranın 2020-2023 arası dönemde %3'e çıktığı bildirilmiştir. Bu çalışmada hastalara ait ilk ve sonraki izolatlar karşılaştırıldığında kolistin direncinin aynı ve çok düşük olduğu (%1.25) tespit edilmiştir. Kolistin direnci tespit edilen izolatlar aynı hastaya aittir.

KF'li hastalarda *P.aeruginosa*'nın antibiyotik direncine neden olan genler, mikroorganizmanın adaptasyon yeteneği ve çevresel baskılara yanıt olarak geliştirdiği mekanizmalarla ilişkilidir. Bu hasta popülasyonunda *P.aeruginosa*'da bulunan karbapenemaz genleri arasında bla_{VIM} , bla_{IMP} , bla_{NDM} ve bla_{KPC} önemli bir yer tutmakla birlikte bla_{VIM} geninin prevalansı genellikle daha yüksektir. Kolombiya'da üç merkezin dahil olduğu bir çalışmada, karbapenem dirençli *P.aeruginosa* izolatlarının %44.6'sında bla_{VIM} geni tespit edilmiştir. bla_{IMP} geninin prevalansı, genellikle diğer karbapenemaz genlerine kıyasla daha düşük olsa da bu genin bulunma oranı coğrafi bölgelere ve hastane koşullarına göre değişmektedir²⁶. KF hastalarında *P.aeruginosa*'da bla_{NDM} ve bla_{KPC} genlerinin prevalansı, genellikle diğer karbapenemaz genlerine göre daha düşüktür. bla_{NDM} geninin özellikle *P.aeruginosa* suşlarında yayılması, Hindistan ve çevresindeki bölgeler gibi bazı coğrafi alanlarda daha fazla görülür. Ancak KF'li hastalarda bla_{NDM} geninin oranı genellikle %1'in altındadır²⁶. Bu çalışmada 10 hastanın ilk üreyen izolatlarında bla_{VIM} geni tespit edilmiştir. Ancak ikinci üremelerde sadece sekiz izolatta bla_{VIM} geni saptanırken diğer direnç genlerinin varlığı hem ilk hem de sonraki izolatlarda tespit edilememiştir. İkinci izolatlarda bla_{VIM} geni tespit edilmiş olan hastalar ile ilk izolatlarda bla_{VIM} geni tespit edilen sekiz hasta aynı hastadır.

KF'li hastalarda, *P.aeruginosa*'nın biyofilm oluşturma yeteneği, enfeksiyonun kronikleşmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Winstanley ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada²⁷, KF'li hastalarda *P.aeruginosa* izolatlarının %80'inin biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma, hastaların akciğerlerinde biyofilm oluşumuyla bakteriyel direncin arttığını göstermektedir. Tahran'da 2021 yılında yapılmış olan çalışmada da KF hastalarında *P.aeruginosa* izolatlarının %76'sının biyofilm oluşturma özelliğinde olduğu tespit edilmiştir²⁸. Biyofilm, bu bakterilerin vücutta uzun süre kalmasına ve antibiyotik tedavilerine karşı daha dirençli olmalarına neden olmaktadır. Çalışmamızda da ardışık izolatlarda biyofilm oluşturma özelliği ilk izolatlara göre artış (n= 3) göstermiştir. Ayrıca her iki izolat grubunda da literatürle benzer şekilde biyofilm oluşumu yüksek oranda gözlenmiştir.

Prospektif olarak yürütülmüş olan bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniğinde takip edilmekte olan KF'li çocuk hastaların rutin takipleri sırasında yapılan hastane ziyaretlerinde alınan ilk ve sonraki izolatların antibiyotik duyarlılığını, antibiyotik direnç genlerini ve biyofilmlerini tespit eden Türkiye'deki ilk çalışmadır. Bu çalışmanın kısıtlılığı, moleküler tiplendirme yöntemiyle aynı direnç paterni ve biyofilm yapımı gösteren ilk ve sonraki izolatların karşılaştırılamamış olmasıdır. Antibiyotik duyarlılık sonuçları açısından değerlendirildiğinde; seftazidim, tobramisin ve meropenem dirençli ilk ve sonraki izolatların aynı hastalara ait olduğu belirlenmiştir. Sadece iki hastada ilk izolatta levofloksasin direnci yokken sonraki izolatlarında direnç ortaya çıktığı saptanmıştır. Benzer şekilde orta ve güçlü biyofilm yapımı gösteren ilk ve sonraki izolatların da aynı hastalara ait olduğu tespit edilmiştir. Bu durum hastaların sahip oldukları *P.aeruginosa* suşunu zaman içerisinde kaybetmediklerini, bu suşlar ile kolonize olmaya devam ettiklerini göstermektedir.

Hem yapılan çalışmalarda hem de bu çalışmada tespit edilen yüksek biyofilm varlığı, hastaların tedaviye yanıtının bakteri eradikasyonu düzeyinde olmayabileceğini ve dolayısıyla mevcut enfeksiyonların kronikleşme eğiliminde olduğunu gösteren önemli bir faktördür. Bu çalışmada elde edilen veriler neticesinde, KF'li hastalarda üreyen *P.aeruginosa*'nın biyofilm ilişkili üreme modunda metabolik olarak daha az aktif bir duruma geçerek daha yavaş üreme hızı gösterme eğiliminde olduğu, bu nedenle bakterinin antibiyotik baskısı altında persister alt popülasyon olarak varlığını sürdürdüğü sonucuna varılmıştır. *P.aeruginosa*'nın yüksek virülansı nedeniyle KF'li hastaların tedavisinde, yeni antibiyofilm tedavi stratejilerinin geliştirilmesi hedeflenmelidir.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Tarih: 30.03.2021 ve Karar No: 2021/07-11).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Borowitz D, Baker RD, Stallings V. Consensus report on nutrition for pediatric patients with cystic fibrosis. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2002; 35(3): 246-59. <https://doi.org/10.1002/j.1536-4801.2002.tb07816.x>
2. Cohen TS, Prince A. Cystic fibrosis: A mucosal immunodeficiency syndrome. Nat Med 2012; 18(4): 509-19. <https://doi.org/10.1038/nm.2715>
3. Konstan MW, Morgan WJ, Butler SM, Pasta DJ, Craib ML, Silva SJ, et al. Risk factors for rate of decline in forced expiratory volume in one second in children and adolescents with cystic fibrosis. J Pediatr 2007; 151(2): 134-9. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2007.03.006>
4. Hoiby N, Frederiksen B, Pressler T. Eradication of early *Pseudomonas aeruginosa* infection. J Cyst Fibros 2005; 4(Suppl 2): 49-54. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2005.05.018>
5. Campodonico VL, Gadjeva M, Paradis Bleau C, Uluer A, Pier GB. Airway epithelial control of *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. Trends Mol Med 2008; 14(3): 120-33. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2008.01.002>
6. Gürpınar Ö, Köseoğlu Eser Ö. *Pseudomonas aeruginosa* rezistansı ve epidemik yüksek riskli klonları. Klimik Derg 2022; 35(2): 55-63. <https://doi.org/10.36519/kd.2022.4002>
7. Breidenstein EB, de la Fuente-Nunez C, Hancock RE. *Pseudomonas aeruginosa*: All roads lead to resistance. Trends Microbiol 2011; 19(8): 419-26. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.04.005>
8. Boucher RC. Airway surface dehydration in cystic fibrosis: Pathogenesis and therapy. Annu Rev Med 2007; 58: 157-70. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.58.071905.105316>
9. Worlitzsch D, Tarran R, Ulrich M, Schwab U, Cekici A, Meyer KC, et al. Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway *Pseudomonas* infections of cystic fibrosis patients. J Clin Invest 2002; 109(3): 317-25. <https://doi.org/10.1172/JCI0213870>
10. Zabner J, Smith JJ, Karp PH, Widdicombe JH, Welsh MJ. Loss of CFTR chloride channels alters salt absorption by cystic fibrosis airway epithelia in vitro. Mol Cell 1998; 2(3): 397-403. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(00\)80284-1](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)80284-1)
11. Blanchard AC, Waters VJ. Opportunistic pathogens in cystic fibrosis: Epidemiology and pathogenesis of lung infection. J Pediatric Infect Dis Soc 2022; 11(Suppl 2): S3-S12. <https://doi.org/10.1093/jpids/piac052>
12. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. Diagn Microbiol Infect Dis 2011; 70(1): 119-23. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002>
13. O'Toole GA. Microtiter dish biofilm formation assay. J Vis Exp 2011; (47): 2437. <https://doi.org/10.3791/2437-v>
14. Winstanley C, O'Brien S, Brockhurst MA. *Pseudomonas aeruginosa* evolutionary adaptation and diversification in cystic fibrosis chronic lung infections. Trends Microbiol 2016; 24(5): 327-37. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.01.008>
15. Sala MA, Jain M. *Pseudomonas aeruginosa* and children with cystic fibrosis. Clin Infect Dis 2021; 73(9): e2529-e30. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa765>
16. Ramsey BW, Wentz KR, Smith AL, Richardson M, Williams-Warren J, Hedges DL, et al. Predictive value of oropharyngeal cultures for identifying lower airway bacteria in cystic fibrosis patients. Am Rev Respir Dis 1991; 144(2): 331-7. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/144.2.331>
17. Eşer Durmaz S, Yabancı N. Kistik fibroziste mikrobelerin ögelerinin önemi. Güncel Pediatri 2021; 2021: 127-34. <https://doi.org/10.4274/jcp.2021.0018>
18. Ong T, Ramsey BW. Cystic fibrosis: A review. JAMA 2023; 329(21): 1859-71. <https://doi.org/10.1001/jama.2023.8120>
19. Cheng WC, Chang CL, Sheu CC, Wang PH, Hsieh MH, Chen MT, et al. Correlating Reiff scores with clinical, functional, and prognostic factors: Characterizing noncystic fibrosis bronchiectasis severity: Validation from a nationwide multicenter study in Taiwan. Eur J Med Res 2024; 29(1): 286. <https://doi.org/10.1186/s40001-024-01870-z>
20. Wang L, Wang J, Zhao G, Li J. Prevalence of bronchiectasis in adults: A meta-analysis. BMC Public Health 2024; 24(1): 2675. <https://doi.org/10.1186/s12889-024-19956-y>

21. Bell SC, Flume PA. Treatment decisions for MRSA in patients with cystic fibrosis (CF): When is enough, enough? Thorax 2017; 72(4): 297-9. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2016-209605>
22. Perikleous EP, Gkentzi D, Bertzouanis A, Paraskakis E, Sovtic A, Fouzas S. Antibiotic resistance in patients with cystic fibrosis: Past, present, and future. Antibiotics (Basel) 2023; 12(2). <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020217>
23. Ramsay KA, Rehman A, Wardell ST, Martin LW, Bell SC, Patrick WM, et al. Ceftazidime resistance in *Pseudomonas aeruginosa* is multigenic and complex. PLoS One 2023; 18(5): e0285856. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285856>
24. Barclay ML, Begg EJ, Chambers ST, Thornley PE, Pattemore PK, Grimwood K. Adaptive resistance to tobramycin in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. J Antimicrob Chemother 1996; 37(6): 1155-64. <https://doi.org/10.1093/jac/37.6.1155>
25. Narimisa N, Keshtkar A, Dadgar-Zankbar L, Bostanghadiri N, Far YR, Shahroodian S, et al. Prevalence of colistin resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*: A systematic review and meta-analysis. Front Microbiol 2024; 15: 1477836. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1477836>
26. Álvarez CA, Merchán AM, Moreno-Pérez DA, Correa A, Pallares CJ, Escobar-Pérez J, et al. Similar frequencies of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing KPC and VIM carbapenemases in diverse genetic clones at tertiary-care hospitals in Medellín, Colombia. Antimicrob Agents Chemother 2020; 64(10): e01121-20.
27. Clark ST, Guttman DS, Hwang DM. Diversification of *Pseudomonas aeruginosa* within the cystic fibrosis lung and its effects on antibiotic resistance. FEMS Microbiol Lett 2018; 365(6). <https://doi.org/10.1093/femsle/fny026>
28. Kodori M, Nikmanesh B, Hakimi H, Ghalavand Z. Antibiotic susceptibility and biofilm formation of bacterial isolates derived from pediatric patients with cystic fibrosis from Tehran, Iran. Arch Razi Inst 2021; 76(2): 397-406.



Bu eser CC BY-NC Atıf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.

Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazardan temin edilebilir.

©Telif Hakkı 2025 Mikrobiyoloji Bülteni'ne aittir. Makale metnine www.mikrobiyolbul.org web sayfasından ulaşılabilir.