

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**KARBAPENEME DUYARLI VE DİRENÇLİ *KLEBSIELLA*
PNEUMONIAE SUŞLARINDAKİ BİYOFİLM ÜRETİMİNİN
FENOTİPİK VE GENOTİPİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet YAVUZEL

Danışman

Prof. Dr. Burçin ÖZER

HATAY-2022

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KARBAPENEME DUYARLI VE DİRENÇLİ *KLEBSIELLA*
PNEUMONIAE SUŞLARINDAKİ BİYOFİLM ÜRETİMİNİN
FENOTİPİK VE GENOTİPİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet YAVUZEL

Danışman

Prof. Dr. Burçin ÖZER

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Birimi tarafından 21.YL.042 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY-2022

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KARBAPENEME DUYARLI VE DİRENÇLİ *KLEBSIELLA*
PNEUMONIAE SUŞLARINDAKİ BİYOFİLM ÜRETİMİNİN
FENOTİPİK VE GENOTİPİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Mehmet YAVUZEL

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından ... /.../2022 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı:
Üye:
Üye:

Bu tez, Enstitümüz Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Prof. Dr.İbrahim Halil Çerçi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarında bana destek olan, güler yüzlülüğünü, cana yakınlığını eksik etmeyen, bilgi ve deneyimleri ile her konuda bana destek olan değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Burçin ÖZER' e,

Yükseklisans eğitimim süresince sevgi ve hoşgörüsünü eksik etmeyen, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli Sayın Prof. Dr. Nizami DURAN' a,

Bilgi, birikim ve deneyimlerini benim ile paylaşan Sayın Emrah AY'a

Bakteriyoloji Laboratuvarı çalışanlarının yardımları ve samimi desteklerinden dolayı Sayın İpek YILMAZ ve iş arkadaşlarına

**SON OLARAK BUGÜNLERE GELMEMDE EMEĞİ GEÇEN
HERKESE TEŞEKKÜR EDERİM...**

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay..	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT.....	X
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tarihçe	4
2.2. Epidemiyoloji.....	5
2.3. Morfoloji ve Görünüm Özellikleri.....	5
2.4. Taksonomi	5
2.5. Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri.....	7
2.6. Patojenite	8
2.7. Hipervirülan <i>K. pneumoniae</i> (hvKP).....	9
2.8. Biyofilm	10
2.8.1 Biyofilm Oluşumu	11
2.8.2 Biyofilm ve Antibiyotik Direnci.....	12
2.9. Virülans Faktörleri.....	13
2.9.1. Kapsül.....	14
2.9.2. Fimbria.....	15
2.9.2.1 Tip 1 Fimbria	16
2.9.2.2 Tip 3 Fimbria	16
2.9.3 Siderofor	17
2.9.3.1 Enterobaktin.....	17
2.9.3.2 Aerobaktin	18
2.9.3.3 Yersinibaktin.....	18
2.9.3.4 Salmochelin	19
2.9.4. Lipopolisakkarit	19

2.10. <i>K. pneumoniae</i> Suşlarında Antibiyotik Direnci	20
2.10.1. Karbapenem Direnci	21
2.11. <i>K. pneumoniae</i> 'nin Neden Olduğu Enfeksiyonlar	23
2.12. <i>K. pneumoniae</i> Enfeksiyonu İçin Risk Faktörleri.....	24
2.13. <i>K. pneumoniae</i> Enfeksiyonlarında Tedavi.....	24
2.13.1.Karbapenemaz Üreten <i>K. pneumoniae</i> Enfeksiyonlarında Tedavi Seçenekleri ...	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Çalışmanın izni ve finans kaynağı	27
3.2. Çalışmada Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	27
3.3. Çalışmada Kullanılan Materyaller	28
3.3.1 Eosin Metilen Mavisı Agar	28
3.3.2. Triptik Soy Broth	28
3.3.3 Kanlı Agar	28
3.3.4 AgaroZ Jel	29
3.4. Yöntem.....	29
3.4.1 Bakteri Suşları.....	29
3.4.2. Bakterilerin Klinik Örneklerden İzolasyonu, Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi	29
3.4.3 Biyofilm Oluşumunun Araştırılması	30
3.4.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Virülans Genlerinin Varlığının Araştırılması.....	32
3.4.4.1 DNA İzolasyonu	32
3.4.4.2 mrkA, wbbM, wzm, luxS Genlerinin Amplifiye Edilmesi.....	33
3.4.4.3 Amplifiye Edilen Gen Ürünlerinin Gösterilmesi.....	33
3.4.5 İstatistiksel Analiz.....	35
4. BULGULAR.....	36
5.TARTIŞMA	59
6. SONUÇ.....	70
7.KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	80

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Mikropleytin spektrofotometrede okutulan görüntüsü	31
Şekil 3.2. mrkA geninin agaroz jel elektroferesindeki görüntüsü	34
Şekil 3.3. wzm geninin agaroz jel elektroferesindeki görüntüsü.....	34
Şekil 3.4. wbbM geninin agaroz jel elektroferesindeki görüntüsü	35
Şekil 3.5. luxS geninin agaroz jel elektroferesindeki görüntüsü	35
Şekil 4.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı	36
Şekil 4.2 Yoğun bakım ve diğer kliniklerden izole edilen suşların karbapenem duyarlılığı	38
Şekil 4.3. Çalışmaya alınan <i>Klebsiella pneumoniae</i> suşlarının antibiyotiklere direnç oranı	41
Şekil 4.4. Suşlardaki ertapenem MİK değerleri ve biyofilm üretimi.....	47
Şekil 4.5. Suşlardaki meropenem MİK değerleri ve biyofilm üretimi	47
Şekil 4.6. Suşlardaki amikasin MİK değerleri ve biyofilm üretimi.....	48
Şekil 4.7. Suşlardaki sefoksitin MİK değerleri ve biyofilm üretimi.....	48
Şekil 4.8. Suşlardaki seftazidim MİK değerleri ve biyofilm üretimi.....	49
Şekil 4.9. Suşlardaki seftriakson MİK değerleri ve biyofilm üretimi.....	49
Şekil 4.10. Suşlardaki gentamisin MİK değerleri ve biyofilm üretimi.....	50
Şekil 4.11. Suşlardaki sefüroksim MİK değerleri ve biyofilm üretimi	50
Şekil 4.12. Suşlardaki trimetoprim/sülfametaksazol MİK değerleri ve biyofilm üretimi	51
Şekil 4.13. Suşlardaki siprofloksasin MİK değerleri ve biyofilm üretimi.....	51
Şekil 4.14. Suşlardaki sefiksim MİK değerleri ve biyofilm üretimi.....	52
Şekil 5.1. Dünya Sağlık Örgütü Avrupa Bölgesindeki (EARS-Net ve CAESAR) ülkelerde üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli invaziv <i>K. pneumoniae</i> suşlarının yüzdesi (WHO 2020).	63
Şekil 5.2. Dünya Sağlık Örgütü Avrupa Bölgesindeki (EARS-Net ve CAESAR) ülkelerde karbapeneme dirençli invaziv <i>K. pneumoniae</i> suşlarının yüzdesi (WHO2020).....	64

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>Klebsiella</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri (Forsythe ve ark. 2019).....	8
Çizelge 3.1. Biyofilm üretim derecelerinin değerlendirilmesi	31
Çizelge 3.2. mrkA, wbbM, wzm, luxS Primer Dizinleri ve Büyüklükleri	33
Çizelge 4.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> suşlarının izole edilen örneklerin kliniklere göre dağılımı	36
Çizelge 4.2. <i>K. pneumoniae</i> suşlarının izole edildikleri örnek türleri ve karbapenem duyarlılık durumları	37
Çizelge 4.3. Yoğun bakım üniteleri ve diğer kliniklerden izole edilen <i>K. pneumoniae</i> suşlarının karbapenem duyarlılık durumları	38
Çizelge 4.4 Karbapenem duyarlı ve dirençli suşların diğer antibiyotiklere direnç durumu	39
Çizelge 4.5. Antibiyotiklerin karbapenem duyarlı ve dirençli <i>K. pneumoniae</i> suşlarına karşı Minimum İnhibitör Konsantrasyon Değerleri.....	40
Çizelge 4.6. Suşlardaki biyofilm üretimi ve karbapenem direnci arasındaki ilişki	42
Çizelge 4.7. Suşların izole edildiği klinik örnekler ve biyofilm üretimi arasındaki ilişki ..	42
Çizelge 4.8. Suşlardaki mrkA, wzm, wbbM ve luxS genlerinin dağılımı	43
Çizelge 4.9. mrkA, wbbM, wzm, luxS genlerinin biyofilm üretimi ile ilişkisi	44
Çizelge 4.10. mrkA, wbbM, wzm, luxS genlerinin karbapenem duyarlılığı ile ilişkisi	44
Çizelge 4.11. Kliniklere göre suşların çoğul ilaca direnç durumu.....	45
Çizelge 4. 12. Çoğul ilaca direnç durumu ve karbapenem duyarlılığı arasındaki ilişki	45
Çizelge 4.13. Çoğul ilaca direnç durumu ve biyofilm üretimi arasındaki ilişki	46
Çizelge 4.14. Suşların antibiyotiklere direnç durumu biyofilm üretimi ile ilişkisi	46
Çizelge 4.15. Suşların izole edildiği klinik, örnek türü, gen varlığı, MDR durumu, biyofilm üretimi ve antibiyotik duyarlılık durumu.....	53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	:	Amerika Birleşik Devletleri
CKp	:	Klasik <i>Klebsiella pneumoniae</i>
MDR	:	Çoğul İlaça Dirençli
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü
°C	:	Derece Santigrat
EMB	:	Eozin Metilen Blue
g	:	Gram
ESBL	:	Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz
CDC	:	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
HMKÜ	:	Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
hvKP	:	Hipervirülen <i>Klebsiella pneumoniae</i>
İYE	:	İdrar Yolu Enfeksiyonu
CPS	:	Kapsül Polisakkarit
KPC	:	Karbapenem Dirençli <i>Klebsiella</i>
KİİYE	:	Katater İle İlişkili İdrar Yolu Enfeksiyonu
kB	:	Kilobayt
KKA	:	Koyun Kanlı Agar
LPS	:	Lipopolisakkarit
µm	:	Mikrometre
mm	:	Milimetre
ml	:	Mililitre
MHA	:	Mueller Hinton Agar
MHB	:	Mueller Hinton Broth
MBL	:	Metallo Beta Laktamaz
MİK	:	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
cm	:	Santimetre
SHİE	:	Sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyon
VİP	:	Ventilatörle İlişkili Pnömoni
YBÜ	:	Yoğun Bakım Ünitesi

ÖZET

Karbapeneme Duyarlı ve Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Suşlarındaki Biyofilm Üretiminin Fenotipik ve Genotipik Olarak Karşılaştırılması

Karbapenem dirençli ve karbapenem duyarlı *K. pneumoniae* suşlarındaki biyofilm üretiminin karşılaştırılması ve biyofilm üretiminde görev aldığı düşünülen virülans faktörlerine ait genlerin varlığını araştırarak karbapenem direnci ile bir ilişkisi olup olmadığını tespit edilmesi amaçlandı.

Çalışmaya 37 karbapenem dirençli ve aynı dönemde izole edilen 63 tane karbapenem duyarlı *K. pneumoniae* dahil edildi. Antibiyotik duyarlılıkları otomatize sistem kullanılarak saptandı. Biyofilm üretiminde rol aldığı düşünülen virülans faktörlerine ait genlerin (*mrkA*, *wbbm*, *wzm*, *luxS*) varlığı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle, suşların biyofilm oluşumu spektrofotometrik mikroplyt yöntemi kullanılarak araştırıldı.

Suşların izole edildiği klinik örnekler sırasıyla idrar 62 (%62), trekeal aspirat 13 (%13), yara 12 (%12), kan 11 (%11) ve balgam 2 (%2) şeklinde olmuştur. Klinik örneklerin %30'u yoğun bakım ünitelerinden, %70'inin diğer kliniklerden gönderildiği tespit edildi. Suşların 65 (%65)'i MDR olarak belirlendi.

Karbapenem direnç oranı %37 idi. Karbapeneme dirençli suşlar amoksisilin/klavulanik asit, piperasillin/tazobaktam, sefoksitin, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, sefuroksim aksetil, amikasin, siprofloksasin ve trimetoprim/sülfametaksazole karşı karbapeneme duyarlı olanlardan daha dirençli olduğu saptandı.

Suşların biyofilm üretiminde, 1'i (%1) güçlü, 30'u (%30) orta, 45'i (%45) zayıf olmak üzere 76'sında biyofilm üretimi görülürken 24 tane suşta biyofilm üretimi görülmedi. Karbapenem dirençli suşların tamamında biyofilm üretimi görülürken karbapenem duyarlı suşların %61,9'unun biyofilm ürettiği saptandı ($p<0,001$). Suşlarda en çok (%73) tespit edilen gen *mrkA* geni idi. Bunu sırasıyla *wzm* (%68), *wbbM* (%57) ve *luxS* (%52) genleri takip etti. Ayrıca karbapenem dirençli olan 37 suşun %70,2'sinde *mrkA*, %54'ünde *wbbM*, %51,3'ünde *luxS* ve %21,6'sında *wzm* geni tespit edildi.

Sonuç olarak karbapenem dirençli olan suşların diğer antibiyotiklere daha dirençli olduğu, MDR oranının karbapenem duyarlı olan suşlardan daha fazla olduğu bulundu. Karbapenem dirençli olanların hepsinin biyofilm ürettiği bulundu. Biyofilm üretimi olan suşlardaki MDR oranının daha fazla olduğu belirlendi. Biyofilm üreten suşlarda ertapenem, meropenem, amikasin, piperasillin/tazobaktam, sefoksitin, seftazidim, seftriakson direncinin daha fazla olduğu saptandı. Bu antibiyotiklerin MİK değerleri biyofilm üreten suşlarda daha fazla bulundu.

Anahtar Kelimeler: *K. pneumoniae*, karbapenem, direnç, biyofilm

ABSTRACT

Phenotypic and Genotypic Comparison of Biofilm Production in Carbapenem Susceptible and Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains

It was aimed to compare the biofilm production in carbapenem resistant and carbapenem susceptible *K. pneumoniae* strains and to determine whether there is a relationship with carbapenem resistance by investigating the presence of genes belonging to virulence factors thought to be involved in biofilm production.

37 carbapenem-resistant and 63 carbapenem-susceptible *K. pneumoniae* isolated in the same period were included in the study. Antibiotic sensitivities were determined using an automated system. The presence of genes (*mrkA*, *wbbM*, *wzm*, *luxS*) of virulence factors thought to play a role in biofilm production was investigated by polymerase chain reaction method. Biofilm formation of the strains was determined using the spectrophotometric microplate method.

The clinical samples from which strains were isolated were urine 62 (62%), tracheal aspirate 13 (13%), wound 12 (12%), blood 11 (11%), and sputum 2 (2%). It was determined that 30% of the clinical samples were sent from intensive care units and 70% of them were sent from other clinics. 65 (65%) of the strains were determined as MDR.

Carbapenem resistance rate was 37%. Carbapenem resistant strains were also found to be more resistant to amoxicillin/clavulanic acid, piperacillin/tazobactam, ceftazidime, ceftriaxone, cefuroxime, cefuroxime axetil, amikacin, ciprofloxacin and trimethoprim/sulfamethoxazole.

While biofilm production was observed in 76 (76%) of the strains, 1 (1%) was strong, 30 (30%) was medium, 45 (45%) was weak, biofilm production could not be detected in 24 strains. All carbapenem resistant strains produced biofilm, while 61.9% of carbapenem susceptible strains produced biofilm ($p < 0.001$). The most (73%) detected gene in the isolates was *mrkA*. This was followed by *wzm* (68%), *wbbM* (57%) and *luxS* (52%) genes, respectively. In addition, *mrkA* gene was detected in 70.2% of 37 carbapenem resistant strains, *wbbM* in 54%, *luxS* in 51.3%, and *wzm* in 21.6%.

As a result, it was found that the strains resistant to carbapenem were more resistant to other antibiotics, and the MDR rate was higher than the strains that were susceptible to carbapenems. It was determined that the MDR ratio was higher in the strains with biofilm production. It was determined that ertapenem, meropenem, amikacin, piperacillin/tazobactam, ceftazidime and ceftriaxone resistance were higher in biofilm producing strains. MIC values of these antibiotics were higher in biofilm producing strains.

Key words: *K. pneumoniae*, carbapenem, resistance, biofilm

1. GİRİŞ

Klebsiella pneumoniae, *Enterobacteriaceae* ailesi içerisinde sınıflanan; kapsüllü, mukoid yapıda ve laktozu fermente edebilen Gram negatif hareketsiz bir bakteridir (Martin ve Bachman 2018).

K. pneumoniae; hayvanlar, insanlar (gastrointestinal sistem, üriner sistem vb.) ve toprak, bitki, kanalizasyon şebekeleri, yüzey suları gibi doğanın farklı alanlarında varlıklarını devam ettirebilmektedirler (Wang ve ark. 2020).

K. pneumoniae'nin geçmişten bugüne görülme sıklığının giderek artması, yeni genetik özellikler kazanması ve sebep olduğu enfeksiyonların ciddi morbidite ve mortalite oranlarına ulaşması *K. pneumoniae*'yi halk sağlığı yönünden ciddi sorunlardan biri yapmıştır (Paczosa ve Mecsas 2016).

K. pneumoniae, *Klebsiella* türleri arasında en çok izole edilen tür olmak ile beraber sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların (SHİE) neden olduğu hastalıkların başında gelmektedir (Broberg ve ark. 2014).

K. pneumoniae çoğu zaman sağlıklı bireylerin gastrointestinal sistemi, solunum yolları ve derilerinde herhangi bir enfeksiyona neden olmadan aseptomatik olarak varlıklarını devam ettirebilmektedir (Holt ve ark. 2015).

Genellikle bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde fırsatçı patojen özelliği göstererek bu kişilerde ciddi enfeksiyonlar meydana getirirler (Holt ve ark. 2015). Bu kişiler çoğu zaman yaşlı insanlar, kanser hastaları ve yeni doğanlar gibi bağışıklık sistemi düşük veya baskılanmış kişilerdir (Holt ve ark. 2015). Hastaların idrar yolları, akciğerleri, karın boşluğu, kan dolaşımı ve yumuşak dokuları enfeksiyon meydana getirmek için uygun bölgelerdir (Broberg ve ark. 2014).

Diyabet hastalarında ve alkolü çok fazla tüketen kişilerde meydana gelen bakteriyel pnömonin başlıca nedeninin *K. pneumoniae* olduğu iyi bilinmektedir (Shon ve ark. 2013). Ayrıca menenjit ve karaciğer apsesi gibi enfeksiyonlara neden olabilir (Shon ve ark. 2013).

K. pneumoniae hastane ortamlarında hızlıca bulaşarak SHİE salgınlarının artmasına neden olan tehlikeli bir patojendir (Herridge ve ark. 2020).

Fırsatçı bir patojen olan *K. pneumoniae*, neden olduğu SHİE'ler ile neonatal sepsisinin artmasına neden olan önemli sebeplerin başında gelir (Herridge ve ark. 2020).

K. pneumoniae, çeşitli virülans faktörlerine sahiptir (Herridge ve ark. 2020). Bu mekanizmalar bakterinin büyümesinde, kolonizasyonunda, konakçıyı enfekte etmede ve konakçının vermiş olduğu tepkiye karşı direnç sağlamada *K. pneumoniae*'ye ek özellikler kazandırmaktadır (Herridge ve ark. 2020).

K. pneumoniae'de bulunan virülans faktörleri bakterinin sahip olduğu çekirdek ve yardımcı genomlardaki genler tarafından kodlanır (Paczosa ve Mecsas 2016). Kapsül, lipopolisakkarit (LPS), sideroforlar ve fimbrialar *K. pneumoniae*'nin sahip olduğu temel virülans faktörleri arasında yer almaktadır (Paczosa ve Mecsas 2016).

K. pneumoniae'nin üriner ve solunum yolu enfeksiyonlarında etkili bir patojen olmasını sağlayan diğer bir önemli etken ise kalıcı tıbbi cihazlarda ve kateterlerde oluşturduğu biyofilmdir (Wang ve ark. 2020). Biyofilm oluşumunda hücre dışı polimerik maddeler, polisakkaritler, proteinler ve DNA içeren karmaşık yapılar yer almaktadır (Wang ve ark. 2020).

Biyofilmin, *K. pneumoniae* tedavisinde kullanılan ampisilin ve siprofloksasin gibi antibiyotiklere karşı uzun süreli tedaviden sonra direnç geliştirdiği görülmüştür (Vuotto ve ark. 2014). Ayrıca bakteriyi konak savunma mekanizmalarına karşı koruyabildiği varsayılmıştır (Murphy ve Cleggs 2012).

K. pneumoniae bünyesinde çok sayıda kromozom gen lokus genomu ve aksesuar plazmid barındırmaktadır. Sahip olduğu genomu ile fırsatçı, çoklu ilaca dirençli (MDR) ve hipervirülan olmak üzere 3 farklı tipte kendini göstermektedir (Martin ve Bachman 2018).

Son yıllarda Asya merkezli olmak üzere dünyanın farklı yerlerinde bildirilmeye başlanan klasik *K. pneumoniae*'den (CKp) farklı hipervirülan suşların varlığı saptanmıştır (Prokesh ve ark. 2016, Pomakova ve ark. 2012). Bu yeni suş ilk olarak karaciğer apsesinin nedenlerinden biri olarak bildirildi (Prokesh ve ark. 2016, Pomakova ve ark. 2012).

Hipervirülan *Klebsiella pneumoniae* (hvKp), CKp'nin aksine daha çok sağlıklı bireylerde enfeksiyona neden olur ve toplum kaynaklıdır (Pomakova ve ark. 2012).

K. pneumoniae'nin önemli bir sorun haline gelmesine neden olan antibiyotik direnci, hastalarda meydana gelen basit enfeksiyonların bile tedavisinde güçlüklerin yaşanmasına neden olmaktadır (Shon ve ark. 2013).

K. pneumoniae suşlarının penisilin ve sefalosporin gibi antibiyotiklere direnç kazanmasının ardından tedavi için imipenem ve meropenem gibi karbapenem türü antibiyotikler kullanılmaya başlanmıştır (Chong ve ark. 2011). Ancak MDR organizmalar, genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) üretimine karşı artan karbapenem kullanımına tepki vererek dirençli suşların meydana gelmesine neden olmuştur (Chong ve ark. 2011). ESBL ve karbapenemaz direnç genlerinin gün geçtikçe yaygınlaşması ve tedavi seçeneklerinin azalması *K. pneumoniae*'nin güçlü bir enfeksiyon kaynağı olmasına olanak sağlamıştır (Kim ve ark.2016, Kumar ve ark. 2011).

Gram negatif bakterilerin beta laktamaz halkası içeren antibiyotiklere direnç kazanmasından sonra karbapenem türü antibiyotiklere karşı da direnç geliştirmesi tedavide zorlukların başlamasına neden olmuştur (Kim ve ark.2016, Kumar ve ark. 2011).

K. pneumoniae suşlarının maruz kaldığı tedavilere ve çevresel değişikliklere hızlıca adapte olabilme yeteneği bu bakterilerin tedavisinde yaşanacak zorlukları artırmaktadır (Kim ve ark.2016, Kumar ve ark. 2011).

K. pneumoniae'nin yeni genetik özellikler kazanması, hipervirülen suşların ortaya çıkması, kullanılan birçok antibiyotiğe direnç kazanması ve tedavi seçeneklerinin giderek azalması, hastalarda meydana gelen enfeksiyonların yönetiminde nasıl bir yol izleneceğine dair bir belirsizlik yaratmıştır (Martin ve Bachman 2018).

Bu çalışmada Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli ve karbapenem duyarlı *K. pneumoniae* suşlarındaki biyofilm üretiminin karşılaştırılması ve biyofilm üretiminde görev aldığı düşünülen virülans faktörlerine ait genlerin varlığını araştırarak karbapenem direnci ile bir ilişkisi olup olmadığını tespit etmek amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Edin Klebs 1874 yılında pnömoniden ölen hastaların hava yollarını incelerken *K. pneumoniae*'yi keşfetmiştir ve ilerleyen yıllarda (1882'de) Carl Friedlander bu mikroorganizmanın tanımlamasını bilimsel olarak yapmıştır. Bu nedenle *K. pneumoniae* ilk zamanlar ‘‘Friedlander basili’’ olarak bilinmektedir (Friedlaender 1882).

K. pneumoniae antibiyotik öncesi dönemde diyabet hastalarında ve alkoliklerde toplum kaynaklı pnömoninin başlıca nedenlerinden biriydi. Antibiyotik sonrasındaki dönemde ise daha çok SHİE'nin nedenleri arasına girmiştir (Shon ve ark. 2013).

Özellikle 1970'lerde idrar yolu enfeksiyonu (İYE) başta olmak üzere, hastanelerde meydana gelen solunum ve kan dolaşımı gibi enfeksiyonlarının başlıca nedenlerinden biri haline gelmişti (Broberg ve ark. 2014, Daikos ve ark. 2012).

K. pneumoniae'nin 1980'lerden itibaren tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı direnç kazanması neden olduğu enfeksiyonların yönetiminde zorlukların ortaya çıkmasına sebep olmuştur (Tumbarello ve ark. 2007).

K. pneumoniae ile ilgili 2000'li yıllarda yapılan farklı süveyans çalışmaları sonucu suşların önemli oranlarda sefalosporinler, florokinolonlar ve aminoglikozidler gibi birinci basamak antibiyotiklere direnç kazandıkları görülmüştür (Molton ve ark. 2013, van Duijn ve ark. 2011).

Kuzey Carolina bölgesinde 1996 yılında izole edilip, 2001'de rapor edilen *K. pneumoniae* suşunun karbapenem türü antibiyotiklere direnç geliştirdiği bildirilmiştir (Yigit ve ark. 2001). Böylece birçok antibiyotiğe dirençli hale gelen *K. pneumoniae* için yeni tedavi seçeneklerinin aranmasına başlanmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2014 yılında, ‘‘Antimikrobiyal Direncin Küresel Süveyansı’’ üzerine yayınladığı rapora göre karbapeneme dirençli *K. pneumoniae*'nin neredeyse bütün ülkelerde görüldüğü bildirilmiştir (WHO 2014).

2.2. Epidemiyoloji

Klebsiella türleri toprak, bitki, yüzey suları ve kanalizasyon gibi çok çeşitli ortamlarda varlıklarını sürdürebilen bakterilerdir. (Wang ve ark.2020).

K. pneumoniae sağlıklı bireylerin farklı vücut bölgelerinde (cilt, burun delikleri, ağız boşluğu, bağırsak ve vajina) herhangi bir enfeksiyona neden olmadan bu bölgelerde asptomatik olarak bulunabilmektedir (Holt ve ark. 2015, Conlan ve ark. 2012).

Akut bakım hastanelerinde SHİE'lerin yaygınlığı giderek artmaktadır. Özellikle yoğun bakım üniterinde (YBÜ) yatan hastalar büyük risk altındadır. *K. pneumoniae*'nin SHİE'lerin artmasında önemli bir kaynak olduğu bildirilmiştir (Magil ve ark. 2014, Cai ve ark. 2017).

Hastane kaynaklı enfeksiyonların artışında önemli bir payı olan *K. pneumoniae*'nin hangi kaynaklardan yayıldığına dair belirsizlik devam etmektedir. Hastanelerin YBÜ veya başka birimlerinde yatan hastaların *K. pneumoniae* taşıyıcısı olma ihtimali yüksektir (Martin ve ark. 2016). Ayrıca sağlık personellerinin kullandığı ekipman ve kontamine eller *K. pneumoniae*'nin bulaş riskini artırmaktadır (Yu ve ark. 2016).

2.3. Morfoloji ve Görünüm Özellikleri

Gram negatif bir bakteri olan *K. pneumoniae* *Enterobacteriaceae* ailesinin bir üyesidir. Spor oluşturma kabiliyeti olmayan hareketsiz bir bakteridir. Eni 0.5-0.8 µm ve boyu 1-2 µm olan *K. pneumoniae* çomak benzeri bir görünüm sergiler. Polisakkarit yapıda kapsüle sahiptir. Oksijen ihtiyacı bakımından aerop ve fakültatif anaerop özeliğindedir (Martin ve Bachman 2018).

Kapsül (K) ve somatik (O) antijenlerine sahiptir. Tiplendirmede daha çok K antijeni kullanılmaktadır. Bakteriyolojik boyalar ile iyi boyanırlar (Martin ve Bachman 2018).

2.4. Taksonomi

Klebsiella ilk keşfedildiği tarihten beri gelişen yeni yöntemlerin kullanılması ile birlikte taksonomisi sürekli olarak güncellenmeye devam etti. İlk zamanlar *Klebsiella*

türleri neden olduğu hastalıklara göre üç türe ayrılmıştır; *K. pneumoniae*, *K. ozaenae* ve *K. rhinoscleromatis* (Podschun ve Ullmann 1998).

Klebsiella'ya ait üyelerin biyokimyasal ve fenotipik özelliklerinin benzer olması geleneksel mikrobiyolojik yöntemlerinin tür ayırımı için uygun olmadığı görülmüştür. Bu nedenle *Klebsiella*'yı kategorize etmek için son güncellemelerde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve genlerin filogenetik analizi gibi yöntemler kullanılmaya başlanmıştır (Brisse ve ark. 2014, Garza-Ramos ve ark. 2015, Martínez-Romero ve ark. 2018).

Klebsiella kompleksinin tüm üyelerini ayırt etmede en güvenli yöntemlerden birisi tam genom dizinlemesine dayalı yapılan yöntemlerdir. Ancak bu yöntem maliyet, hız ve verim açısından sınırlı olduğu için rutin olarak uygulanması zordur (Holt ve ark. 2015, Brisse ve ark. 2014).

Son zamanlarda birçok klinik, çevresel ve gıda mikrobiyoloji laboratuvarında birinci basamak tanımlama yöntemi olarak kullanılan, Matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-zaman uçuş (MALDI-TOF) kütle spektrometrisi (MS), hız, verimlilik ve uygun maliyet açısından tercih edilen önemli bir tanımlama yöntemi olmuştur (van Belkum ve ark. 2017).

MALDI-TOF yöntemi sayesinde *K. pneumoniae*'den sadece %3-4 çekirdek kromozomal genlerde nükleotid farklılığı gösteren türlerin ayırımı yapılmıştır (Wyres ve ark. 2020).

K. pneumoniae olarak tanımlanan suşların büyük bir kısmının aslında *K. pneumoniae* ile % 95-96 ortalama nükleotid özdeşliğini paylaşan yakından ilişkili türlere ait olduğu yapılan klinik ve laboratuvar çalışmasında genom dizilime ile açıklığa kavuşturmuştur (Wyres ve ark. 2020).

Klebsiella cinsinin resmi bir taksonomik sınıflandırması olmaması ile beraber birçok türü (*K. indica*, *K. terrigena*, *K. spallanzanii*, *K. huaxiensis*, *K. oxytoca*, *K. grimontii*, *K. pasteurii* ve *K. michiganensis*) mevcuttur (Wyres ve ark. 2020).

Klebsiella cinsi yeni yöntemlerin ışığı altında yedi filogenetik grup olarak sınıflandırılmıştır; *K. pneumoniae* (Kp1), *K. quasipneumoniae* subsp. *quasipneumoniae* (Kp2), *K. variicola* subsp. *variicola* (Kp3), *K. quasipneumoniae* subsp. *similipneumoniae* (Kp4), *K. variicola* subsp. *tropica* (Kp5), *K. quasivariicola* (Kp6) ve *K. africana* (Kp7) (Lam ve ark. 2021).

Klebsiella cinsi içerisinde yer alan türler arasında SHİE'lerde %75 - %86 arasında en çok görülen *K. pneumoniae*'dir. Bu oranı %13 - %25 arasında takip eden *K. oxytoca*'dır (Broberg ve ark. 2014). Daha az sıklıkla rastlanan ve spesifik hastalıklarla ilişkili olan *Klebsiella ozaenae* ve *Klebsiella rhinoscleromatis* ayrı türler olarak sayılmaktadır. Bu iki tür yapılan DNA-DNA hibridizasyon sonuçlarına bakılarak *K. pneumoniae*'nin alt türü olarak kabul edilmektedir (Broberg ve ark. 2014, Dong ve ark. 2022).

2.5. Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri

Çeşitli yaşam alanlarında varlıklarını sürdüren *K. pneumoniae* kuruluğa dirençli, ısıya dayanıksızdır. En iyi üredikleri ortam sıcaklığı 37 °C' dir. *K. pneumoniae* dışındaki *Klebsiella* türleri 4-44 °C' de üreme yeteneği gösterebilirler. *Klebsiella* suşları 55 °C' de 30 dk ve üzerinde inhibe olurlar (Bennett ve ark. 2019, Procop ve ark. 2017).

Üreme ve büyüme ortamı uygun olan yerlerde oda sıcaklığında haftalarca, +4 °C gibi bir sıcaklık değerinde aylarca varlıklarını sürdürebilme yeteneğindedirler (Bennett ve ark. 2019, Procop ve ark. 2017).

Eozin Metilen Mavis (EMB), jeloz, kanlı jeloz, Mac Conkey, Ksiloz Lizin Deoksikolat agar (XLD), buyyon, gibi besiyerlerinde üreme özeliğindedirler. Polisakkarit yapısında O ve K antijenleri bulunur. Serolojik tiplendirmeler bu antijenlere göre yapılır. Katı besiyerlerinde sahip oldukları kapsül sayesinde büyük ve yoğun mukozal şekilde akışkan koloniler oluştururlar. Dik jeloz veya jelatin besiyerinde yüzeyde yayvan bombeli bir üreme, besiyerinin dibine doğru ise dar bir üreme zonu görülür. Buna çivi gibi üreme de denir. Farklı durumlarda bazen S veya R koloni morfolojisi gösterebilirler. Yapılan identifikasyon yöntemlerinde İndol negatif, metil red negatif, voges proskauer pozitif, sitrat pozitif, üre ve lizin dekarboksilaz pozitifdir. Karbon kaynağı olarak malonat ve sitratı kullanır, Hidrojen sülfür (H₂S) üretmez ve fenilalanini deamine etmez. *K. pneumoniae*'nin laktozdan gaz oluşumu pozitifdir (Bennett ve ark. 2019, Procop ve ark. 2017, Gür 2014). *K. pneumoniae*'yi diğer türlerden ayıran biyokimyasal özellikler Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Enterobacteriaceae ailesi içerisinde yer alan bakterilerden farklı olarak nişastayı 4 gün içerisinde parçalayıp gaz çıkarabilmektedir (Procop ve ark. 2017).

Çizelge 2.1. *Klebsiella* türlerinin biyokimyasal özellikleri (Forsythe ve ark. 2019).

Özellikler	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella planticola</i>	<i>Klebsiella ozaneae</i>	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	<i>Klebsiella terrigena</i>
İndol	-	+	-	-	-	-
Metil kırmızısı testi	-	-	+	+	+	+
Voges-Proskauer testi	+	+	+	+	-	+
Sitrat	+	+	+	+	-	-
Hidrojen Sülfür	-	-	+	+	-	-
Üre Hidrolizi	+	+	+	+	-	-
Fenilalanin Deaminase	-	-	-	-	-	-
Lizin dekarboksilaz	+	+	+	-	-	-
Arginin Dihidrolaz	-	-	-	-	-	-
Ornitin dekarboksilaz	-	-	-	-	-	-
Hareket (36 °C)	-	-	-	-	-	-
Jelatin Hidrolizi (22)	-	-	-	-	-	-
Potasyum Siyanürde Üreme	+	+	+	+	+	+
Malonat oluşumu	+	+	+	-	+	+
D – Glukoz, asit	+	+	+	+	+	+
D – Glukoz, gaz	+	+	+	+	+	+
Laktoz fermantasyonu	+	+	+	-	-	+
Sükroz Fermantasyonu	+	+	+	-	+	+

2.6. Patojenite

K. pneumoniae, İYE başta olmak üzere kan dolaşımı enfeksiyonları ve pnömoni gibi ciddi enfeksiyonlar meydana getirir (Magill ve ark.2014).

K. pneumoniae daha çok hastane kaynaklı yatışlar ve farklı nedenlerden dolayı bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler üzerinde fırsatçı patojenite özelliği gösterir (Holt ve ark. 2015).

K. pneumoniae'nin önemli bir patojen özelliği mukozal yüzeylerde kolayca kolonize olabilme yeteneğidir. Ayrıca kolonize olduğu bölgeden ayrılarak farklı bölgelerde ikincil bir enfeksiyon meydana getirebilir (Martin ve Bachman 2018).

Biyofilm *K. pneumoniae*'nin patojenite gücünü artıran önemli bir yeteneğidir. Çünkü bakterinin oluşturduğu biyofilm ona çevreden gelen ultraviyole radyasyonuna, aşırı sıcaklık, aşırı pH, yüksek tuzluluk, yüksek basınç, zayıf besinler ve antibiyotiğe maruz kalma gibi olumsuz şartlara karşı ek koruma desteği sağlar (Flemming ve ark. 2016).

K. pneumoniae kateterlerde ve diğer tıbbi cihazlarda oluşturabildiği biyofilm sayesinde İYE başta olmak üzere çeşitli enfeksiyonların meydana gelmesine neden olur (Wang ve ark. 2020).

K. pneumoniae 'nin sahip olduğu virülans faktörleri arasında yer alan kapsül, LPS, pili ve sidereforlar mikroorganizmanın patojenite özelliğini artırarak bakterinin daha kolay enfeksiyon yapmasına yardımcı olur (Paczosa ve Mecsas 2016).

2.7. Hipervirülan *K. pneumoniae* (hvKP)

Son yıllarda bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerin yanı sıra sağlıklı bireylerde piyojenik karaciğer apsesi gibi oldukça invaziv enfeksiyonlara neden olan klasik *K. pneumoniae* 'den farklı yeni bir patojen keşfedilmiştir (Prokesch ve ark. 2016, Pomakova ve ark. 2012,).

hvKp olarak adlandırılan bu yeni suş CKp nin neden olduğu enfeksiyonlardan farklı olarak toplum kökenlidir ve yaptığı enfeksiyonların yaklaşık yarısının sağlıklı bireylerde meydana geldiği görülmüştür (Prokesch ve ark. 2016, Pomakova ve ark. 2012).

hvKP, menenjit ve endoftalmi gibi ağır enfeksiyonlar ile komplike bir şekilde kendini gösterebilir (Shon ve ark. 2013). hvKP suşu hipermukoviskozite fenotipindedir. Bunu sahip olduğu kapsüller polisakkarit üretimini artırmasına ve rmpA gibi spesifik virülans genlerinin varlığına borçludur (Paczosa ve Mecsas, 2016).

Bu yeni hipervirülan suş 1980'lerden sonra Tayvan ve Güneydoğu Asya'da bildirilmiştir. Ancak daha sonra dünya genelinde yaygınlaşmıştır. Asya'da piyojenik karaciğer apselerinin en yaygın nedeninin hvKP olduğu düşünülmektedir (Shon ve ark. 2013).

Hastane ortamlarında *K.pneumoniae* suşlarında hvKp prevelansı giderek artmaktadır. Yaşanan bu artış ülkelerin sağlık bakım yönünden iş gücünü ve maliyetini artırmaktadır (Li ve ark. 2014).

2.8. Biyofilm

Biyofilm oluşumu, mikroorganizmaları ultraviyole radyasyonuna, aşırı sıcaklık, aşırı pH, yüksek tuzluluk, yüksek basınç, zayıf besinler ve antibiyotiğe maruz kalma durumları gibi zorlu çevre şartlarına karşı koruyarak mikroorganizmanın büyüme ve gelişmesinde önemli avantajlar sağlamaktadır (Flemming ve ark. 2016).

Biyofilm oluşumunda hücre dışı polimerik maddeler, polisakkaritler, proteinler ve DNA içeren karmaşık yapılar yer almaktadır (Wang ve ark. 2020).

Hastane ortamında özellikle kalıcı tıbbi cihazlar, kataterler ve uzun süreli yatan hastalarda idrar sondaları gibi tıbbi ekipmanların varlığında *K. pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonların riski büyük oranda artmaktadır (Singhai ve ark. 2012).

K. pneumoniae, bu tıbbi cihazlar ve ekipmanlar üzerinde oluşturabildiği biyofilm ile hastaların üriner, solunum ve gastrointestinal sistemlerinde ciddi enfeksiyonların meydana gelmesine neden olmaktadır (Bandeira ve ark. 2014).

Biyofilm oluşumunun *K. pneumoniae*'nin kalıcı olmasında ona ek avantajlar sağladığına inanılmaktadır. Biyofilm içindeki bakterilerin konağın savunmasına ve kullanılan birçok antibiyotiğe karşı daha dirençli olması bu yaygın düşüncüyü desteklemektedir (Vuotto ve ark. 2014).

Biyofilm yüzeyinin yakınında veya uzağında üreyen bakteriler arasında önemli farklar görülmüştür. Biyofilm yüzeyine yakın üreyen bakteriler, biyofilmin derinliklerinde üreyen bakterilere göre daha hızlı büyüme göstermiştir. Bu büyümedeki fark aktif bölünen bakterilerin tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı biyofilm bakterisini daha dirençli bir hale getirmiştir (Jia ve Guo 2021).

Biyofilm oluşumu nesnelerin yüzeyine yapışma, küçük kolonilerin ortaya çıkması ve bunların olgunlaşarak serbest hücreler halinde yayılması gibi süreçleri içerisinde barındıran karmaşık bir olaydır (Özer ve Erdem Uysal 2021, Oleksy-Wawrzyniak ve ark. 2022).

K. pneumoniae'nin biyofilm oluşumunda virülans faktörleri ile ilgili genlerin payı olduğu görülmüştür. Örneğin Tip 3 fimbriaya ait Mrk genleri (Alcantar-Curiel ve ark. 2013), LPS oluşumunda görev alan altı genli wb kümesine ait enzimleri kodlayan wbbM ve wzm genleri (Boddicker ve ark. 2006, Balestrino ve ark. 2008) ve biyofilm oluşumunda

düzenleyici ve otoindükleyici görevi üstlenen luxS geni biyofilm oluşumunda görev alan bazı genlerdir (Chen ve ark. 2014).

Biyofilm oluşumunu esas olarak Tip 3 fimbrianın protein alt birimi olan MrkA geni başlatır, fimbrianın ucunda bulunan MrkD bileşeni ise uzantının bağlanma gücünü belirler (Murphy ve Clegg 2012). Biyofilm oluşumunda görev alan diğer bir virülans faktörü olan kapsül ise hücreler arası iletişimi sağlayarak biyofilm mimarisinin yapısında rol oynar (Clegg ve Murphy 2016). Tüm bu biyofilmin oluşum sürecini, transkripsiyonel düzenleme, mikrobiyal popülasyonda gen ekspresyonunu kontrol eden, sinyalleri ve yanıtları koordine eden bir otoindükleyiciler yani çekirdek algılama sistemi ile düzenlenir (Clegg ve Murphy 2016).

2.8.1 Biyofilm Oluşumu

Biyofilm oluşumu; polisakkaritler, proteinler, lipidler, RNA ve hücre dışı DNA gibi nükleik asitlerden meydana gelen ve hücre dışı polimerik maddeler matrisine gömülü olan mikroorganizma topluluklarının bulunduğu karmaşık bir yapıdır (Renner ve Weibel 2011, Ozer ve Erdem Uysal 2021).

Biyofilm oluşumu sürekli olarak yeniden başlayan ve bir döngü içerisinde devam eden dinamik bir süreçtir. Bu dinamik süreç beş farklı aşamadan meydana gelmektedir (Sadekuzzaman ve ark. 2015, Özer ve Erdem Uysal 2021).

Birinci adım, bakteriyel hücrelerin biyotik veya abiyotik yüzeylere flagella ve fimbria gibi hücre uzantılarının yardımıyla ve yüzeye olan van der Waals kuvvetleri vb. zayıf etkileşimlerle yüzeye geri dönüşümlü olarak bağlanmasıdır (Guilbaud ve ark. 2017).

İkinci adım, geri dönüşümlü olarak yüzeye bağlanmadan sonra flagella, pili, LPS, ekzopolisakkaritler, kollajen bağlayıcı yapışkan proteinler gibi yapıların desteğiyle daha güçlü etkileşimler ile artık geri dönüşümsüz safhaya geçilmiştir (Laverty ve ark. 2014).

Üçüncü adım, bu aşamada geri dönüşümsüz olarak bağlanan yapıların gelişim sürecidir. Çok katmanlı hücreler çoğalarak birikir, hücre dışı polimerik maddeler salgılanır, mikrokoloni olarak daha yapılandırılmış bir aşamanın başlangıcını oluşturur (Laverty ve ark. 2014, Guilbaud ve ark. 2017).

Dördüncü adım, çoğalan mikrokoloniler artık olgunlaşmaya başlar ve kendilerini idame ettirmek için besinlerini ve sinyal molekülerini, oluşturdukları yapı içinde etkin bir şekilde iletimini sağlamak için kanallar oluştururlar (Dufour ve ark.2012).

Beşinci adım, tamamen olgunlaşan koloniler içsel ve dışsal faktörler aracılığıyla artık dağılmaya ve farklı yerlerde kolonizasyon oluşturmaya başlarlar (Lavery ve ark. 2014).

2.8.2 Biyofilm ve Antibiyotik Direnci

Biyofilm oluşumu, dışardan gelen tehditler karşısında bakteriye önemli derecede tolerans ve direnç desteği sağlamaktadır. Biyofilmin sağladığı faydalardan bir tanesi antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç mekanizmasıdır (Olsen 2015).

Bakteriyel biyofilm, üst düzey bir şekilde organize olmuş, hücre dışı polimerik maddeler ile matrisle kaplanmış ve bağlandıkları yüzey ile bir ilişki içerisinde olan bakteri topluluklarıdır. Bu topluluk planktonik hücrelerden, başta antibiyotik direnci olmak üzere büyüme ve gen ekspresyonu gibi farklı fenotipik özellikler sergilemektedir (Vuotto ve ark. 2014, Özer ve Erdem Uysal 2021).

Biyofilm topluluklarının planktonik hücrelere göre antibiyotiğe olan dirençleri azımsanmayacak oranda kat ve kat fazladır (Vuotto ve ark. 2014).

Biyofilmlerin antibiyotiklere karşı bu denli dirençli olmaları büyük sorunları beraberinde getirmektedir. Bakteri enfeksiyonlarında yapılan antibiyotik tedavisinde biyofilm topluluklarının bu tedaviye duyarsız kaldığı ve etkilenmediği görülmüştür (Chung 2016).

Biyofilm oluşumunun beraberinde getirdiği fenotipik değişimler biyofilm topluluğunun antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesine katkıda bulunmaktadır. Oluşan bu direnç mekanizmalarını; bakterinin türü, biyofilmin ömrü, gelişim aşaması ve büyüme koşulları gibi durumların etkilediği bilinmektedir (Hathroubi ve ark. 2017).

Biyofilmler antibiyotiğe karşı bir duvar etkisi göstererek fiziksel olarak işlevini etkileyebilir ve biyofilmin kalınlığı bu açıdan bakteri için önemli bir avantajdır (Vuotto ve ark. 2014).

Biyofilmin oluşumunda görev alan polisakkaritler, proteinler, lipidler, RNA ve hücre dışı DNA gibi hücre dışı polimerler antibiyotiğe bağlanarak bakterinin inhibe olmasını engelleyebilir (Nadell ve ark. 2015).

2.9. Virülans Faktörleri

Bakteri suşlarının sahip olduğu virülans faktörleri bakteriyel patojeniteyi artırarak, bakterinin hastalık yapabilme yeteneğine doğrudan katkı sağlar (Piperaki ve ark. 2017).

K. pneumoniae, enfeksiyon yapabilmek için öncelikle mekanik ve kimyasal engelleri geçmesi, konağın humoral ve hücresel bağışıklığı tarafından tanınmadan kaçması gerekir (Piperaki ve ark. 2017). Bu aşamalardan geçebilmesi ve enfeksiyon yapabilmesi için suşun sahip olduğu virülans faktörleri bu açıdan büyük bir öneme sahiptir.

Fırsatçı bir patojen olan *K. pneumoniae* enfekte ettiği konakçının immün cevabına karşı güçlü duracak ve konakçıda ciddi enfeksiyonlara yol açabilecek önemli virülans faktörlerine sahiptir (Shon ve ark. 2013).

Sağlık hizmetleri ile ilişkili *Klebsiella* enfeksiyonlarının en çok izole edildiği ve en çok enfeksiyon meydana getirdiği bölgeler idrar ve solunum yollarıdır (Holt ve ark. 2015). Buralarda tutunan *Klebsiella* suşlarına konakçının vermiş olduğu immün cevap farklı olmasından dolayı bu bölgelerde suşların sahip olduğu virülans faktörlerinin de paterninin farklı olacağı göz önünde bulundurulmalıdır (Paczosa ve Mecsas 2016).

K. pneumoniae sahip olduğu patojenite yeteneğini artıran virülans faktörleri, hem çekirdek hem de yardımcı genomlardaki genler tarafından kodlanır (Paczosa ve Mecsas 2016).

K. pneumoniae'nin bilinen temel virülans faktörleri arasında; kapsül, LPS, sideroforlar ve pili bulunur (Paczosa ve Mecsas 2016).

Son zamanlarda tartışılan ve yeni virülans faktörleri olarak kabul edilebilecek allantoin kullanımı, diğer demir alım sistemleri, eflüks pompaları ve bir tip VI sekresyon sistemi gibi faktörler de tanımlanmaya devam etmektedir (Martin ve Bachman 2018).

2.9.1. Kapsül

K. pneumoniae için önemli bir virülans faktörü olan kapsül, polisakkarit yapısındadır. Yapılan serolojik testler sonucu 79 kapsül çeşidi sınıflandırılmış ve bu kapsüllerin dört ila altı şekerden ve çoğu zaman üronik asitlerden oluştuğu gözlemlenmiştir (Pan ve ark. 2015) .

K. pneumoniae tarafından üretilen kapsül polisakkaritleri “K” antijenleri olarak adlandırılır ve üretilen polisakkarit kapsül serolojik teknikler kullanarak tanımlanır (Wyres ve ark. 2016).

Klebsiella enfeksiyonlarının ciddiyeti genellikle spesifik K antijenleri veya kapsül polisakkaritleri (CPS) tipleri içeren suşlara atfedilir. Örneğin piyogenik karaciğer apseleri gibi toplumdan edinilmiş invaziv enfeksiyonlara neden olan *K. pneumoniae* suşları daha çok K1 ve K2 antijenleri ile özdeşleşmiştir (Shon ve ark. 2013, Siu ve ark. 2012).

Suşların sahip olduğu kapsüllerin tiplerine göre virülans yetenekleri farklı olabilir. (Siu ve ark. 2012).

K antijeni ile ilgili birçok çalışmada İYE, pnömoni ve bakteremili hastalardan izole edilen suşlarda en çok rastlanan kapsül tipi K2 serotipi olduğu bildirilmiştir (Li ve ark. 2014, Shon ve ark. 2013).

Moleküler tekniklerde yaşanan gelişmeler *K. pneumoniae* tipleri arasında ayrımın daha net olarak yapılmasına ve tüm serotiplerde CPS lokusunun tam sekanslanmasına fırsat vermiştir (Pan ve ark. 2015).

Kapsül, bakteriyi öldürücü serumdan ve yapısındaki polimorfonükleer granüositler sayesinde fagositozdan korur (Paczosa ve Mecsas 2016).

Kapsüller yapısal olarak masif katmanlar halinde bakteri yüzeyini kaplayan kalın lifli yapı demetlerinden oluşur (Opoku-Temeng ve ark. 2019).

Polisakkarit yapısındaki kapsülün antifagositik özelliği dışında in vitro olarak makrofajların farklılaşmasına neden olduğu ve çalışma mekanizmasını inhibe ettiği bildirilmiştir (Paczosa ve Mecsas 2016).

Kapsülün enfeksiyonlardaki rolü kapsamlı olarak araştırılmış ve savunma işlevi olduğu, fagositik immün hücrelere karşı koruma sağladığı, kompleman aracılı lizisi bloke

ettiği ve proinflatuar sitokin düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir (Siu ve ark. 2012, Opoku-Temeng ve ark. 2019).

Kapsüle sahip olan suşlar ve kapsülsüz suşlar karşılaştırıldıklarında kapsülsüz suşların gelen dış etkilere daha savunmasız olduğu, fagositoza daha kolay uğrayabildiği ve serum komplemanı ile inhibe olmaya daha duyarlı olduğu görülmüştür (Kobayashi ve ark. 2018).

2.9.2. Fimbria

Fimbrialar hastalık etkeni olan patojenin konakçı yüzeye yapışmasını kolaylaştırarak hastalığın başlamasında önemli bir rolü olan yapışkan çıkıntılardır (Paczosa ve Mecsas 2016).

K. pneumoniae, filamentöz yapıda olan Tip 1 fimbria ve heliks benzeri şekle sahip olan Tip 3 fimbria olmak üzere iki ana fimbria türüne sahiptir (Paczosa ve Mecsas 2016). Bu iki tip fimbrianın önemini göstermek için in vivo olarak yapılan bir çalışmada, bir kateteri taklit eden implante edilmiş bir cihaz içeren İYE modeli hazırlanmıştır. Bu çalışma sonucunda her iki tip fimbrianın katater varken idrar yolunda çok iyi bir şekilde kolonizasyon yaptığı görülmüştür ve bu çalışmaya istinaden fimbriaların enfeksiyonun başlamasında ve ilerlemesinde önemli katkısı olduğu bildirilmiştir (Murphy ve ark. 2013).

Klinik olarak fimbriaların sağladığı en önemli faydalar arasında biyofilm oluşumu ve abiyotik yüzeylere bağlanma yer alır. Fimbrialar sayesinde *K. pneumoniae* kalıcı kataterler veya kullanılan diğer tıbbi cihazların yüzeylerine bağlanabilir ve savunmasız bölgelerde tekrar enfeksiyona neden olabilir (Murphy ve ark. 2013).

Stahlhut ve ark. (2012) Tip 1 ve Tip 3 fimbriaların katater ile ilişkili idrar yolu enfeksiyonunun (KİİYE) biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini belirlemek ve fimbrial ekspresyonu karakterize etmek için yaptıkları çalışmada iki fimbrianın da biyofilm oluşumunda önemli katkıları olduğu bildirilmiştir.

K. pneumoniae'nin en çok meydana getirdiği enfeksiyon türü İYE'dir. Murphy ve ark. (2013) çalışılan fare modellerinde İYE için her iki fimbrial tipin de ilk kolonizasyonda ve enfeksiyon sonrası 48 saate kadar kalıcılıkta rol oynadığını bildirmişlerdir.

2.9.2.1 Tip 1 Fimbria

Tip 1 fimbrialar enterobakteriyel türlerin çoğunda bulunur ve Tip 3 fimbriadan daha fazla araştırılması yapılmıştır. Tip 1 fimbrialar mannoz içeren yapılara yapışmaya aracılık eder (Clegg ve Murphy 2016).

Tip 1 fimbrialar esas olarak 2 alt birimden oluşur. Uç noktasında bulunan FimH ve filamentli membrana bağlı yapışkan yapıda FimA alt birimlerinden oluşur (Paczosa ve Mecsas 2016).

Tip 1 fimbrianın insan mukozal veya epitel yüzeylerine yapışma yetenekleri aracılığıyla virülansa yardımcı olduğu düşünülmektedir (Schroll ve ark. 2010).

Tip1 fimbrianın virülans faktörü olarak birçok yararı vardır. Örneğin abiyotik yüzeylerde ve mesanede biyofilm oluşturma yönünde eğilim gösterirler. Ancak bazı durumlarda *K. pneumoniae* virülansını in vivo şekilde olumsuz etkilediği görülmüştür. Makrofajlar ve nötrofiller aracılığıyla *K. pneumoniae* lektinofagositozunu güçlendirebilir (Murphy ve ark.2013, Paczosa ve Mecsas 2016).

Fimbrianın alt birimi olan FimH, mast hücrelerinin bağışıklık hücrelerine bağlanmayı artırarak nötrofillerin toplanmasına ve bağışıklık hücresinin aktivasyonunun artmasına yardımcı olur (Andrade ve ak. 2014, Lery ve ark. 2014) .

2.9.2.2 Tip 3 Fimbria

K. pneumoniae yüzeyinde bulunan Tip 3 fimbria, membrana bağlı sarmal şeklinde yapışkan yapılardır. Membrana ilk bağlandığı yerde mrkA ve ucunda mrkD alt birimleri bulunur (Clegg ve Murphy 2016).

Tip 3 fimbrialar *K. pneumoniae* 'nin biyofilm üretimi ile tıbbi cihazlara, kataterlere, hücre dışı matrislere bağlanmasına aracı olduğundan bakteri için bulunma gerekliliği göstermiştir (Stahlhut ve ark. 2013, Murphy ve ark. 2013).

Tip 3 fimbriayı kodlayan operon, genel olarak bütün *K. pneumoniae* suşlarında mevcuttur. Tip 3 fimbrialar Tip 1 fimbrialar gibi mannoza duyarlı değildir ve bu nedenle mannoza bağlanmazlar (Murphy ve ark. 2013).

2.9.3 Siderofor

K. pneumoniae gelişmesini tamamlamak için demire ihtiyaç duyar. Patojen bakterinin konak hücre ile olan savunma mekanizması kadar, büyümek ve gelişmek için demir tedarikine olan ihtiyacı önemli boyuttadır. Memeli konakçılarda çok düşük miktarda serbest demir bulunur. Oysaki demir, oksijen ve elektron taşıma süreçlerine katılan proteinlerde bir redoks katalizörü işlevi gören son derece önemli bir faktördür (Lam ve ark. 2018, Larrie-Bagha ve ark. 2013).

Konakçı hücre patojen bakterinin gelişmesine ve büyümesine engel olmak için demiri tutar. Konakçıda serbest demirin az bulunması gibi durumlar nedeniyle patojen bakterilerin konakçıda enfeksiyon yapabilmek için büyümeyi ve gelişmeyi destekleyecek olan demir alımı için taktikler kullanırlar. Bu nedenle birçok patojen bakteri demir ihtiyacını karşılamak için yaptığı en iyi yöntem, konak taşıyıcı proteinlerden daha yüksek afiniteye sahip moleküller olan sideroforların salgılanmasıdır (Choby ve ark. 2020, Russo ve Marr 2019). Salgılanan bu sideroforlar sayesinde farklı dokuların başarılı bir şekilde kolonizasyonunu optimize eder ve sideroforun konakçı tarafından nötralizasyonundan kaçmasına yardımcı olur (Russo ve Marr 2019).

K. pneumoniae'deki sideroforlar enterobaktin, yersiniabactin, salmochelin ve aerobactin dahil olmak üzere çeşitli sideroforlar ile ifade edilir (Russo ve Marr 2019).

Sideroforlar arasında en çok eksprese edilen enterobaktindir ve hemen hemen bütün *K. pneumoniae* suşlarında bulunur. Bu da enterobaktinin *Klebsiella* suşları tarafından en çok kullanılan birincil demir alım sistemi yapar (Russo ve Marr 2019).

2.9.3.1 Enterobaktin

Döngüsel yapısı 2,3-dihidroksil-benzoil-serin olan enterobaktinin, *K. pneumoniae* dışında diğer enterobakterilerin de ana demir alım sistemini oluşturduğu görülmektedir (Holden ve Bachman 2015).

K. pneumoniae'de enterobaktin biyosentezi için gerekli genler, entABCDEF gen kümesindeki kromozom üzerinde taşınırken, fepABCDG gen kümesi taşınmasına aracılık eden proteinleri ve FEPA özellikle alım reseptörünü kodlar (Nemati Zargaran ve ark. 2021).

Antimikrobiyal yeteneklere sahip çok işlevli bir protein olan Lipokalin-2 enfeksiyon sırasında nötrofiller dahil birçok hücre tipinden salınır (Holden ve ark. 2018). Lipokalin-2, *K. pneumoniae* inhibe etmez ancak büyüme ve gelişme için gerekli olan sideroforlardan bazılarına bağlanarak onları nötralize eder. Bu durum *K. pneumoniae*'nin demir alımını inhibe ederek büyümesine engel olur (Holden ve ark. 2018, Holden ve Bachman 2015). Lipokalin-2 enterobaktin üzerinde de aynı etkiye sebep olup onu nötralize eder. Akciğerlerde enfeksiyonun ve kolonizasyonun yayılmasında Lipokalin-2'nin olmadığı durumlarda enterobaktin artı işlev göstermiştir (Holden ve Bachman 2015).

2.9.3.2 Aerobaktin

Bir sitrat-hidroksamat sideroforu olan aerobaktin, CKp suşlarında ifade edilmesine rağmen hvKP suşlarında bulunmaları daha baskındır (Russo ve ark. 2015). Akciğer enfeksiyonuna neden olan CKp suşlarında daha az miktarda aerobaktin bulunurken akciğer enfeksiyonuna neden olan hipervirülan suşlarda bu siderofor çok büyük oranlarda bulunur (Russo ve ark. 2015).

Aerobaktinin bakteriyal virülansa katkısı, enterobaktinin aksine açıkça gösterilmiştir. Ayrıca enterobaktin demirin verilmesinden sonra bir esteraz ile hidrolize olurken, aerobaktin demir taşıma dönüşünden sonra tekrar aktif iş görebilir (Russo ve ark. 2014)

Enterobaktinin aksine aerobaktin, ferrik demire çok daha düşük afinitesi olduğundan transferrine bağlı demir için etkili bir rakip değildir (Holden ve Bachman 2015).

2.9.3.3 Yersinibaktin

Yersinibaktin, enterobaktinden yapısal olarak farklı olduğundan akciğer enfeksiyonunda eksprese edilir ve erken akciğer enfeksiyonu sırasında lipokalin-2 tarafından inhibe edilmez (Lam ve ark. 2018). Yersinibaktin, Lipokalin-2'ye dayanıklı olmasına rağmen konakçı protein transferrin varlığında gerekli demiri yeterince elde edemez ve büyüme kısıtlı kalır (Bachman ve ark. 2012).

Yersinibaktin'in demirin dışında Cu^{2+} gibi diğer ağır metalleri de bağlayabildiği, *Escherichia coli*'den eksprese edilen yersiniabactinde de görülmüştür. Ayrıca bakır

toksisitesine ve redoks bazlı fagosit savunmalarına karşı koruma sağladığı görülmüştür (Koh ve Henderson 2015).

Sadece yersinibaktin sideroforu ifade eden suşlar, akciğerlerden yayılamaz çünkü kan plazmasında yoğunlaşmış olan transferrin *K. pneumoniae* büyümesini engeller. Bu nedenle sadece yersinibaktin sideroforu bulunduran suşların neden olduğu enfeksiyon daha kolay atlatılır (Bachman ve ark. 2012).

2.9.3.4 Salmochelin

Diğer bir siderofor olan salmochelin, c-glukosile bir enterobaktin formudur. Bu yeni formun oluşmasındaki modifikasyon *iroA* gen kümesi, *iroBCDE* içindeki bir plazmid üzerinde bulunan genler tarafından gerçekleştirilir (Struve ve ark. 2015, Tian ve ark. 2021).

Salmochelin, lipokalin-2 tarafından bağlanmaz ve bu sayede siderofor nötralizasyonu önlenmiş olur. Böylece salmochelin'in lipokalin-2 ye karşı elde ettiği bu yetenek ile uygun bir konakçıda nazofarenksin *K. pneumoniae* kolonizasyonunu artırmış olur (Bachman ve ark. 2012).

Kolonizasyonun olduğu konakçılarda salmochelin pozitif olan suşların daha virülan olduğu düşünülebilir. Bu düşüncüyü salmochelinin klasik suşlarda çok düşük, hipervirülan suşlarında çok daha yaygın olduğu destekler (Bachman ve ark. 2012).

2.9.4. Lipopolisakkarit

LPS Gram negatif bakterilerde endotoksin olarak bilinen ve hepsinde tipik olarak birbirine benzeyen bir yapıdır. Bu yapı bir O antijeni, bir çekirdek oligosakkarit ve lipid A olmak üzere 3 ana alt birimden oluşur (De Majumdar ve ark. 2015).

K. pneumoniae 9 farklı O antijenine sahiptir ve en yaygın olan O1 antijenidir (De Majumdar ve ark. 2015).

LPS, humoral savunmalara karşı etkili bir virülans faktörü görevi görür. Bu işlevinden dolayı fayda sağlamış olur ancak güçlü bir bağışıklık aktivatörü olmasından dolayı enfeksiyona eksi yönde etki edebilir (Paczosa ve Mecsas 2016).

LPS'nin lipid A kısmı potansiyel bir enflamasyon aktivatörüdür. Enfeksiyon sırasında bakteriyi daha az patojen hale getirmek için lipid A'yı değiştirebilir. Ayrıca lipid A katyonik antimikrobiyal peptitlerin bakterisidal etkisine karşı koruma sağlayabilir. Lipid

A, TLR4'e karşı güçlü bir ligand görevi görür. *K. pneumoniae* enfeksiyonunu temizleyen ve yayılmasını önleyen hücrel tepkilerin toplanmasına ve etkinleştirilmesine yardımcı olan kemokinlerin ve sitokinlerin üretiminde rol oynar (Standiford ve ark.2019).

LPS'nin en dışındaki alt birimi somatik antijenidir. Komplemana karşı kompleman yolunu inhibe eden C1q'nin bakterilere bağlanmasını önler, C3b'yi dış bakteriyel membrandan uzaklaştırır ve kompleman membran atak kompleksi tarafından bakteriyel lizisi ortadan kaldırarak önemli bir virulan özellik sergiler (Paczosa ve Meccas 2016, Standiford ve ark.2019).

2.10. *K. pneumoniae* Suşlarında Antibiyotik Direnci

K. pneumoniae İYE, bakteriyemi, akciğer apsesi ve pnömoni gibi hastalıklara neden olan, mortalite ve morbiditesi yüksek SHİE'ye sebep olan bir patojendir (Paczosa ve Meccas 2016).

K. pneumoniae 'nin antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç mekanizmaları altında, antibiyotikleri inhibe edebilen enzimlerin salınması, antibiyotik hedef bölgelerinin modifikasyonu, membran geçirgenliğinde değişiklik, efluks pompası sistemlerinin aktivasyonu ve metabolik yolların değiştirilmesi gibi sebepler yatmaktadır (Nordmann ve Poirel 2014).

Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde beta laktam halkası içeren ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır (Shaikh ve ark. 2015). Gram negatif bakterilerin tedavisinde penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler ve monobaktamlar gibi antibiyotikler kullanılır. Ancak Gram negatif bakterilerde beta laktam halkasını inhibe edebilen β - (Beta) laktamazların varlığı bakterilerin antibiyotiğe karşı direnç kazanmasına neden olur (Shaikh ve ark. 2015).

Tedavide sefalosporinlerin ve penisilinlerin yaygın kullanılması sonucu, dünya genelinde ESBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının yaygınlaşmasına neden olur (Kim ve ark. 2016).

ESBL üreten *K. pneumoniae* suşları penisilinler ve çoğu sefalosporin gibi β -laktam antibiyotiklerini hidrolize eder. Bu hidroliz sonucu suşlar antibiyotiğe karşı direnç kazanır (Navon-Venezia ve ark. 2017).

ESBL'leri kodlayan genlerin çoğunun plazmid aracılı olması direnç genlerinin bakteriler arasında hızlı ve kolay bir şekilde yayılmasına olanak sağlamıştır. En çok görülen ESBL'ler; temoneira (TEM), sülfidril değişkeni (SHV) ve sefotaksimaz (CTX-M) grubunda yer alır (Shahraki-Zahedani ve ark. 2016).

ESBL'lerin en yaygın olanları TEM ve SHV dir. Ayrıca bu iki tür dışında Gram negatif bakterilerde 400 farklı ESBL türü bulunmuştur (Barguigua ve ark.2011). TEM ve SHV enzimlerini kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlar, tüm sefalosporinlerin, penisilinlerin ve aztreonamın hidrolizine izin veren genişletilmiş bir substrat profiline sahip mekanizmanın gelişmesine neden olmuştur (Gholipour ve ark. 2014, Latifpour ve ark. 2016).

TEM-1'in bakteri türleri arasında yayılmasındaki en önemli nedeni plazmid ve transpozon aracılı olmasıdır. TEM-1 izole edildiği tarihten sonraki birkaç yıl içinde Gram negatif bakterilerin birçok türü arasında hızlıca yayılmıştır ve dünya çapında β -laktamaz antibiyotiklerine dirençli türler haline gelmeye başlamıştır. TEM-1, penisilinleri, sefalotin ve sefaloridin gibi erken sefalosporinleri hidrolize edebilir. TEM-1 *Haemophilus influenzae*, *E.coli* ve *Neisseria gonorrhoeae*'de ampicilin ve penisiline direnç kazandıran enzim özelliğindedir (Arakawa 2020).

2.10.1. Karbapenem Direnci

ESBL üreten *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavisinde öncelikli ilaç olarak karbapenem grubu antibiyotikler kullanılmıştır. Ancak 2001 yılında Kuzey Carolina'da 1996 yılında izole edilen ilk karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşunun bildirilmesi ile tedavideki zorluklar değişmeye başlamıştır (Yigit ve ark. 2001).

Karbapenem türü ilaçlarda antibiyotik direncine neden olan enzim karbapenemazlar (KPC), 2000 yılında tanımlanmıştır. Bu enzimlerin aktif bölgesi, çoğu karbapenemin asilasyonuna izin veren β -laktamazlardır (Markogiannakis ve ark. 2013).

KPC genlerinin plazmid aracılı olması, hastanelerde bulaşın fazla olması ile bağlantılıdır ve bu türün tedavisinde yaşanan zorluklar enfeksiyonu kontrol etme açısından oldukça zahmetlidir (Gupta ve ark. 2011).

Önemli karbapenem hidrolize edici enzimler olarak kabul edilmeyen β -laktamazları (örn. ESBL'ler, AmpC) içeren mekanizmalar dışında, gerçek karbapenemazlar,

K. pneumoniae'de ilave geçirgenlik kusurları olmaksızın karbapenemlere duyarlılıktan sorumludur. Bu karbapenemazlar Ambler moleküler sınıf A, B veya D'ye aittir (Nordmann ve ark. 2011).

A sınıfına dahil olan KPC tipi β -laktamazlar çoğunlukla SHİE etkeni *K. pneumoniae* izolatlarından ve çok daha az ölçüde *E. coli*'den ve diğer enterobakteriyel türlerden bildirilmiştir (Munoz-Price ve ark. 2013).

KPC tipi enzimler sefalosporinlere, penisilinlere, karbapenemlere ve monobaktamlara direnç sağlar ve klavulanik asit, tazobaktam, boronik asit ve avibaktam gibi β -laktamaz inhibitörleri tarafından inhibe edilir (Nordmann ve Poirel 2014).

B Sınıfı metalo- β -laktamazlar (MBL), sefalosporinleri, penisilini ve karbapenemleri hidrolize edebilir ancak aztreonamı hidrolize etme yeteneği yoktur. Ayrıca monobaktamlara duyarlıdırlar (Nordman ve ark. 2011).

Bu sınıfta bulunan Verona integron kodlu metalo- β -laktamaz (VIM) dünya genelinde en çok rastlanan türüdür. VIM dışında IMP türü ve son zamanlarda bildirilen Yeni Delhi metalo- β -laktamaz-1 (NDM-1) türleri de mevcuttur (Nordmann ve Poirel 2014).

NDM-1'in ilk tanımından bu yana, bu enzimin 10'dan fazla varyantı tanımlanmıştır, bunların çoğu Asya'da ortaya çıkmıştır. NDM tipi enzimlere sahip *Enterobacteriaceae* ailesine ait bakteriler kolistin, fosfomisin ve tigesiklin gibi ajanlara çoğunlukla duyarlı kalmaktadır (Nordmann ve Poirel 2014).

VIM enzimini üreten *K. pneumoniae* izolatlarının fazlaca bulunduğu ülkeler Yunanistan ve İtalya'dır. Çin, Japonya ve Avustralya'da ise daha çok IMP tipi üreten *K. pneumoniae* suşları tanımlanmıştır (Nordmann ve Poirel 2014).

D sınıfı içerisine giren tek enzim türü OXA-48 ve türevleridir. OXA-48 tipi karbapenemaz ilk 2003 yılında Türkiye'de bir *K. pneumoniae* izolatında tanımlanmıştır (Poirel ve ark. 2004).

Hindistan'da ise OXA-48 benzeri karbapenemaz aktivitesine sahip OXA-181 olarak adlandırılan nokta mutant analogu bildirilmiştir (Castanheira ve ark. 2011).

K. pneumoniae OXA-48 ve OXA-181 dışında benzer hidrolitik özelliklere sahip OXA-204 ve OXA-232 türevleri de tanımlanmıştır (Oueslati ve ark. 2015). Yeni

keşfedilen bir OXA-48 izoenzimi olan OXA-163 dört aminoasit delesyonu ile birleştirilmiş tek bir aminoasit ikamesidir (Poirel ve ark. 2011). Diğer OXA türevlerinden farklı olarak geniş spektrumlu sefalosporinleri güçlü bir şekilde hidrolize ettiği ve karbapenemlere karşı zayıf aktiviteye sahip olduğu için spesifik hidrolitik özellikler gösterir (Poirel ve ark. 2011). Daha önce 70 kb'lık bir plazmid ile transfer olduğu düşünülen OXA-48 direnç özelliği şuanda 62,5 kb'lık plazmid ile ilişkilendirilmiştir (Carrër ve ark. 2010). En fazla *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşlarında bulunmak üzere *Enterobacteriaceae* ailesinin tüm üyelerinde bulunmuştur (Poirel ve ark. 2012). OXA-48 ve OXA-181 karbapenemleri, seftazidim ve aztreonam gibi geniş spektrumlu sefalosporinleri zayıf bir şekilde hidrolize ederler (Castanheira ve ark. 2011). OXA-48 tipi sentezleyenler muhtemelen tanımlanması en zor karbapenemaz üreticileridir. Bu nedenle gözden kaçabilir (Nordmann ve ark. 2011).

2.11. *K. pneumoniae*'nin Neden Olduğu Enfeksiyonlar

K. pneumoniae, başta İYE olmak üzere, piyojenik karaciğer absesi ve pnömoni gibi hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olan ciddi bir patojendir (Spagnolo ve ark. 2014). Aynı zamanda yara ve yumuşak dokularda da önemli enfeksiyonlar meydana getirir (Spagnolo ve ark. 2014).

K. pneumoniae'nin neden olduğu KİİYE başka bir enfeksiyon şeklidir. *K. pneumoniae* sahip olduğu yapışma özelliği ile kateterlere bağlanarak ikincil bir enfeksiyona neden olabilir (Wang ve ark. 2020).

K. pneumoniae insan gastrointestinal sistemini ve nazofarinksi kolonize ettikten sonra kan dolaşımı ile diğer dokulara ulaşarak buralarda enfeksiyon meydana getirebilir (Martin ve Bachman 2018).

K. pneumoniae, *E. coli*'den sonra kan dolaşımı yoluyla enfeksiyona neden olan ikinci patojen konumundadır (Magill ve ark. 2014). Kan dolaşımı enfeksiyonu bazı durumlarda birincil enfeksiyon kaynağı olabilir ve başka kaynaklara yayılarak idrar yolu, gastrointestinal sistem, solunum sistemi vb. farklı bölgelerde ikincil bir enfeksiyon meydana getirebilirler (Martin ve Bachman 2018). Ayrıca *K. pneumoniae*'nin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonunun prevelansı giderek artarken aynı zamanda ciddi mortalite oranlarına ulaşmaktadır (Li ve Huan 2017).

Diyabet hastalarında ve kronik alkolik kişilerde meydana gelen bakteriyel pnömoninin önde gelen nedenlerinden biridir (Shon ve ark. 2013). Yerleşik bir üropatojen özelliğinde olup safra yolu enfeksiyonları ve osteomyelit gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır (Spagnolo ve ark. 2014).

Yenidoğan servislerinde bulunan bebeklerde özellikle prematüre olanlarda meydana gelen sepsisin ve menenjitin etkenidir (Piperaki ve ark. 2017).

2.12. *K. pneumoniae* Enfeksiyonu İçin Risk Faktörleri

K. pneumoniae 'nin birçok antibiyotiğe dirençli hale gelmesi ve bu direncin giderek yayılması endişe verici bir halk sağlığı sorunudur. *K. pneumoniae* 'nin neden olduğu enfeksiyonlar ve bu enfeksiyonların tedavisinde karşılaşılan antibiyotik direnci, SHİE'lerin artışındaki önemli sebepler arasındadır (Paczosa ve Mecsas 2016). ESBL üretimi dışında gelişen karbapenemaz direnç mekanizması da *K. pneumoniae* 'nin tedavi seçeneklerini kısıtlamaktadır (Hu ve ark. 2020).

K. pneumoniae 'nin risk teşkil etmesine neden olan önemli sebeplerinden birisi hastanede kalış süresidir. Hastanın hastanede kalış süresi ne kadar artarsa çevredeki antibakteriyel ajanlara maruz kalma süresi artacaktır (Liu ve ark. 2018). SHİE'lerin artışında önemli payı olan *K. pneumoniae* 'nin, kullanılan tıbbi cihaz ve sağlık bakım personeli aracılığı ile bulaşın riski artmaktadır (Yu ve ark. 2016).

Hastanelerin yoğun bakım ünitelerinde solunum güçlüğü çeken hastaların solunum desteği için bağlandığı ventilatörlerle ilişkili pnömoninin (VİP) başlıca nedenleri arasında *K. pneumoniae* 'nin de önemli bir rol aldığı görülmüştür (Kalanuria ve ark. 2014).

K. pneumoniae 'nin antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç tedavideki riskleri artırmaktadır. Antibiyotiğe direnç gelişmesinin en önemli nedenleri arasında aşırı antibiyotik kullanımı, yetersiz ya da eksik kullanımı ve yanlış antibiyotik kullanımı bulunmaktadır (Odonkor ve Addo 2011).

2.13. *K. pneumoniae* Enfeksiyonlarında Tedavi

K. pneumoniae 'nin sahip olduğu farklı direnç mekanizmaları nedeniyle son yıllarda antibiyotik direncinde ciddi bir artış olduğu görüldü (Wang ve ark. 2020). β -laktam

antibiyotikleri 1940’lardan beri *K. pneumoniae*’nin neden olduğu enfeksiyonlarda klinik olarak kullanılmaktadır. Ancak 1960’larda *K. pneumoniae*’nin penisilin direncinin ortaya çıkması ile β -laktamaz direnç genlerinin varlığı araştırılmaya başlandı (Wang ve ark. 2020). *K. pneumoniae* ve diğer *Enterobacteriaceae* ailesinin neden olduğu enfeksiyonlarda aminoglikozidler önemli bir tedavi seçeneğiydi. Ancak sefalosporinler, florokinolon ve karbapenemler türü antibiyotiklerin kullanılmaya başlanması ile tedavide öncelik değişti (Krause ve ark. 2016). Tigesiklinin yan etkileri fazla olmasına rağmen ESBL pozitif suşlarda önemli bir tedavi seçeneği olduğu görüldü (Golan 2015).

2.13.1 Karbapenemaz Üreten *K. pneumoniae* Enfeksiyonlarında Tedavi Seçenekleri

K. pneumoniae’nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisindeki zorluklar MDR genlerin ortaya çıkması ile başlamıştır (Nordmann ve ark. 2012). Ortaya çıkan bu genler yeni direnç mekanizmaları geliştirmiştir. ESBL, sefalosporinazlar ve karbapenemazlar gibi β -laktamazların üretimini içeren direnç mekanizmaları tedaviyi zorlaştırmıştır (Nordmann ve ark. 2012).

Karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*’nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde tek başına kullanılıp kesin sonuç alabilecek herhangi bir antibiyotik olamayabilir (Rodríguez-Baño ve ark. 2015).

Uygulanacak olan tedavi için antibiyotik moleküllerine karşı mikrobiyal duyarlılığın in vitro modellere göre uyarlamak gerekir. Doğru tedaviyi seçmek için her zaman duyarlılık testi üzerinden hareket edilmelidir (Rodríguez-Baño ve ark. 2015).

Tedavide enfeksiyon üzerinde etkili sonuç alabilmek için bakteriyi öldürmenin kombine inhibitörlerle olabileceğini savunan çalışmalar, hastalarda ölüm oranlarının azaldığını gösterse de bazı çalışmalar kayda değer bir sonuç alınmadığını göstermiştir (Tzouvelekis ve ark. 2014, Zavascki ve ark. 2013).

K. pneumoniae gibi *Enterobacteriaceae* ailesinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde karbapenemler son çare olarak görülmektedir (Karaiskos ve Giamarellou 2014). İlaça dirençli organizmaların varlığı tedavide güçlüklerin yaşanmasına sebep olmaktadır. En son olarak in vitro duyarlılık yönünden, tedavide iyi sonuçlar gösterebilen iki ajan; polimiksin (kolistin ve polimiksin B) ve tigesiklidir. Ayrıca karbapenemaz üreten

bazı *K. pneumoniae* suşlarının halen gentamisine duyarlı olması tedavide önemlidir (Doi ve Paterson 2015).

İn vitro etkinlik analizleri sonucu, duyarlılık testlerine bağlı kalınarak tigesiklin, gentamisin ve kolistin gibi ikinci bir ajan ile karbapenem içeren kombinasyon tedavisinin kullanılması ile başarılı sonuç alındığını göstermiştir (Karaiskos ve Giamarellou 2014).

Tedavide kombinasyon şeklinde kullanılan ajanların, sinerjik etkileşimler yaparak aşırı yüksek dozların kullanımını ve direnç oluşumunu en aza indirdiği gösterilmiştir. Ayrıca tek başlarına kullanıldığında gösterdikleri etkinin daha fazlasını kombinasyon şeklinde kullanıldıklarında göstermişlerdir (Tzouvelekis ve ark. 2014, Zavascki ve ark. 2013, Falagas ve ark. 2014).

Karbapenem türü bir ajan ile polimiksin veya aminoglikozid türü bir ajanın kombinasyonu hastalarda mortalite oranının azaltacağını düşündürmektedir (Karaiskos ve Giamarellou 2014). Örneğin OXA-48 üreticilerine bağlı bakteriyemi için kolistin içeren kombinasyonun kullanılması mortaliteyi azaltabileceği sonucuna varılmıştır (Jayol ve ark. 2016).

Son zamanlarda üzerinde durulan ve umut verici ilaçlardan biri olan avibaktam ile seftazidim kombinasyonudur. Avibaktam, OXA-48 ve KPC gibi β -laktamazların in vitro aktivitesini önemli ölçüde inhibe eden β -laktam inhibitörüdür (Temkin ve ark. 2014).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın izni ve finans kaynağı

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi (HMKÜ) Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 26/08/2021 tarihinde 08 nolu etik onay kararıyla onaylanmıştır. HMKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) 21YL042 numaralı proje ile desteklenmiştir.

3.2. Çalışmada Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

Koyun Kanlı Agar (KKA) (Merck, Almanya)
Mueller Hinton Agar (MHA) (Merck, Almanya)
Eosin Metilen Mavisı Agar (EMB, Merck, Almanya)
Triptik Soy Broth (TSB) (Merck, Almanya)
Dimetil sülfoksit (Merck, Almanya)
Hassas Terazı (Ohaus, Çin)
Yoğunluk ölçer (Biosan, DEN-1 Mc Farland Densitometer, Letonya)
Otoklav (ALP MCY-40 LDP, Japonya)
İnkübatör (Lab Companion, ABD)
Vorteks (Jeotech - LAB Companion, Kore)
PZR Cihazı (Techne Flexigene™, İngiltere)
UV Transillumunator (Wealtec, Dolphin-View, ABD)
Elektroforez Ünitesi (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD)
Derin dondurucu (-80 °C) (Wisd UniFreez U700, Kore)
Buzdolabı (+4 °C) (Criyo UST 800, Çin)
Güvenlik Kabini (Metisafe, Ankara/Türkiye)
Petri Kapları (Isolab, Almanya)
Spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific Oy, Finlandiya)
Öze (Isolab, Almanya)
Ependorf Tüpleri (Isolab, Almanya)
Mikropipetler (Axypet, Polonya)
Miktopleyt (Isolab, Almanya)
Deney Tüpü (Isolab, Almanya)
PZR Tüpleri 0,2 ml (Isolab, Almanya)

Etidyum Bromür (Roth, Almanya)
Bakteri Genomik DNA İzolasyon Kiti (Hibriden, Türkiye)
Agaroz (Biomax, European Economic Community)
100 bb OptiDNA Marker (abm, Kanada)
dNTP Mix 40 mM (Ampliqon, Denmark)
Taq DNA Polimeraz (Genedirex, Tayvan)
MgCl 25 mM (Ampliqon, Denmark)
TBE Buffer 10X (Thermo Scientific, Litvanya)
DNA Jel Yükleme Boyası (Thermo Scientific, Litvanya)
Primer Dizinleri (Macrogen, Kore)

3.3. Çalışmada Kullanılan Materyaller

3.3.1 Eosin Metilen Mavisı Agar

Toz halinde alınan besiyerinden (Merck, Almanya) kullanım talimatında yazıldığı gibi 36 gr tartılarak 1000 ml distile suda homojen olarak çözölme işlemi yapıldı. Elde edilen homojen karışım otoklavda 121°C’de 15 dakika boyunca steril edildi. Hazırlanan besiyeri sıcaklığı yaklaşık 45°C’ye kadar soğutulduktan sonra 9 cm çapındaki steril petri kaplarına (Isolab, Almanya) her petride 20 ml olacak şekilde besiyeri döküldü. Kullanıma hazır olan besiyerleri +4°C buzdolabında muhafaza edildi.

3.3.2. Triptik Soy Broth

Toz halinde alınan besiyerinden (Merck, Almanya) kullanım talimatında yazıldığı gibi 30 gr tartılarak 1000 ml distile suda homojen olarak çözölme işlemi yapıldı. Elde edilen homojen karışım otoklavda 121°C’de 15 dakika boyunca steril edildi. Karışımın sıcaklığı yaklaşık 45°C’ye düştükten sonra 200 ml gliserin eklendi. Daha sonra steril olan endorff tüplerinin (Isolab, Almanya) her birine 1 ml olacak şekilde besiyeri döküldü.

3.3.3 Kanlı Agar

Toz halinde alınan besiyerinden (Merck Almanya) kullanım talimatında yazıldığı gibi 40 gr tartılarak 1000 ml distile suda homojen olarak çözölme işlemi yapıldı. Elde edilen homojen karışım otoklavda 121°C’de 15 dakika boyunca steril edildi. Steril olan karışımın sıcaklığı 45°C’ye düştükten sonra içerisine 50 ml koyun kanı eklendi. Hazırlanan

besiyeri 9 cm çapındaki steril petri kaplarına (Isolab, Almanya) 20’ser ml olacak şekilde döküldü. Kullanıma hazır olan besiyerleri +4°C buzdolabında muhafaza edildi.

3.3.4 Agaroz Jel

Tris/Borat/EDTA (TBE) tamponu (10X) (Thermo Scientific, Litvanya) 0.5X TBE olacak şekilde distile su ile seyreltildi. Hazır toz halinde bulunan agarozdan (Biomax, European Economic Community) 2 gr tartılarak 100 ml’lik 0.5X TBE’ye eklendi. Karışım mikrodalga fırında 3-5 dk kaynatıldı. Daha sonra elde edilen homojen karışıma 10 mg/ml’ik etüdyum bromid (Merck, Almanya)’den 6 µl ilave edildi. Elektroforez tarakları jel dökme kabına, tabanda 1 mm boşluk kalacak şekilde ayarlanarak yerleştirildi. Yaklaşık 60 °C’ye kadar soğutulan agaroz jeli, jel kabına dökölüp donması için oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Taraklar dikkatlice çıkartılarak jel kullanıma hazır hale getirildi.

3.4. Yöntem

3.4.1 Bakteri Suşları

Şubat 2021-Ocak 2022 tarihleri arasında HMKÜ Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarı Bakteriyoloji bölümüne gönderilen klinik örneklerden (idrар, yara, balgam, trakeal aspirat, kan) izole edilen 37 adet karbapenem dirençli *K. pneumoniae* ve aynı dönemde izole edilen 67 adet karbapenem duyarlı *K. pneumoniae* suşu çalışmaya dahil edildi.

Vitek 2 otomatize sistem (bioMérieux, Fransa) kullanılarak antibiyotik duyarlılıkları saptanan *K. pneumoniae* suşları çalışmalarda kullanılmak üzere saf koloni halinde izole edildi. Safılaştırılan suşlar, içerisinde %20 gliserin bulunan Triptik soy broth (TSB) (Merck, Almanya) saklama besiyerine alınarak -80 °C’de derin dondurucuya kaldırıldı.

3.4.2. Bakterilerin Klinik Örneklerden İzolasyonu, Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

HMKÜ Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı Bakteriyoloji bölümüne gelen klinik örneklerin (idrар, yara, balgam, trakeal aspirat, kan) Gram boyaması yapılarak incelendi. EMB (Merck Almanya) ve Kanlı Agar (Merck, Almanya) besiyerlerine ekimi

yapılan örnekler 24 saat boyunca 37 °C etüvde (Lab Companion, ABD) inkübasyona bırakıldı. Üreyen mikroorganizmaların koloni morfolojileri *K. pneumoniae* açısından gözlemlendi. *K. pneumoniae*'nin tür düzeyinde tanımlanmasında oksidaz testi, üçlü şeker demir agar (TSİ- Thyrple sugar iron), İMVİC (İndol, metil red, voges proskauer, sitrar, üreaz) testleri gibi konvansiyonel yöntemler kullanıldı ve Vitek 2 otomatize sistem (bioMérieux, Fransa) ile doğrulandı.

Bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıkları Vitek 2 otomatize sistem (bioMérieux, Fransa) ile belirlendi ve Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) sınır değerlerine göre yorumlandı (EUCAST, 2022). Ertapenem, meropenem veya imipenem türü karbapenemlerden herhangi birine dirençli olanlar karbapenem dirençli olarak belirlendi ve karbapenem dirençli gruba dahil edildi. Antibiyogramları yapılan suşların üç veya daha fazla antimikrobiyal kategoride en az bir ajana direnç gösterenler MDR olarak belirlendi (Magiorakos ve ark. 2012).

3.4.3 Biyofilm Oluşumunun Araştırılması

K. pneumoniae suşlarının biyofilm oluşumu ve ölçümü spektrofotometrik (Thermo Fisher Scientific Oy, Finlandiya) mikropleyt yöntemi kullanılarak tespit edildi (Stepanovic ve ark. 2000).

EMB (Merck, Almanya) besiyerinde canlandırılarak saf koloni halinde elde edilen bakteri suşları 10 ml TSB'ye (Merck, Almanya) inoküle edilerek 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası TSB de üreyen bakteriler fizyolojik tuzlu su (FTS) kullanılarak bakteri yoğunlukları 0,5 McFarland bulanıklığına (1×10^8 cfu/ml) ayarlandı ve 96 kuyucuklu mikropleytin her kuyucuğuna 10 µL bakteri süspansiyonu koyuldu. Daha sonra her kuyucuğa 200 µL daha TSB eklenerek 96 kuyucuklu mikropleytler 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki süpernatant kısım mikropipet yardımı ile alındı. Süpernatant kısımları alınan kuyucuklar 3 kere FTS ile yıkanarak kurumaya bırakıldı. Kuruma sonrası her bir kuyucuğa 200 µL kristal viyole eklenerek 20 dk beklemeye bırakıldı. Bir sonraki aşamada kuyucuklar FTS ile 3 kere yıkanarak kurumaya bırakıldı. Kuruyan kuyucukların her birine 200 µL Dimetil sülfoksit (DMSO) eklenerek spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific Oy, Finlandiya) pleyt okuyucuda 492 nm dalga boyunda 3 kez okutuldu ve çıkan sonuçların ortalaması alınarak aşağıdaki çizelgeye göre değerlendirildi (Çizelge 3.1) (Stepanovic ve ark. 2000).

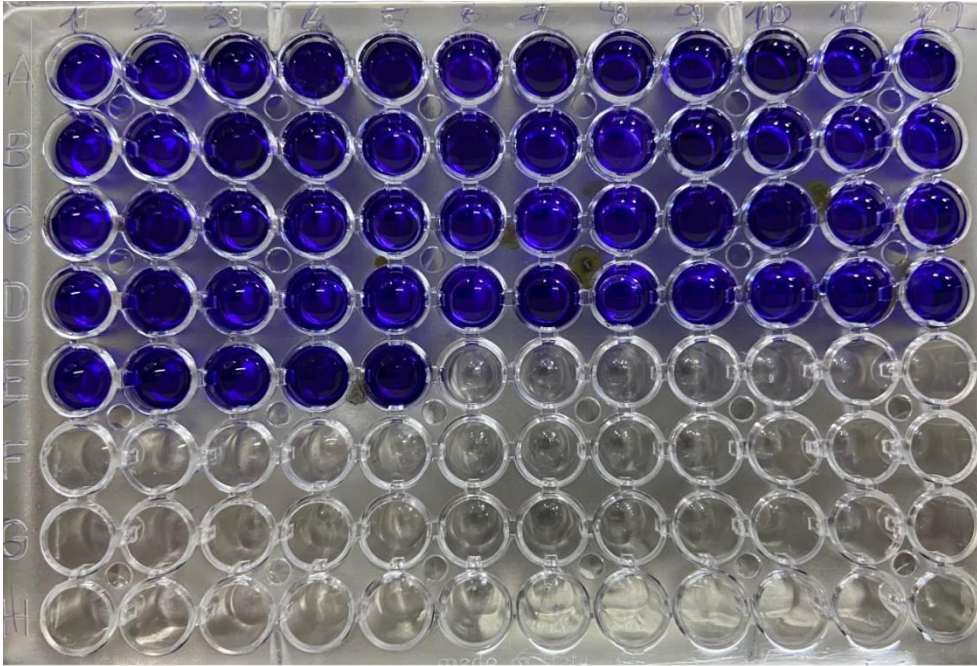
Çizelge 3.1. Biyofilm üretim derecelerinin değerlendirilmesi

$OD^* \leq OD_c^{**}$	Negatif
$OD_c < OD \leq (2 \times OD_c)$	Zayıf
$OD_c < OD \leq (4 \times OD_c)$	Orta
$4 \times OD_c < OD$	Güçlü

OD*: Optik Dansite

OD_c^{**}: negatif kontrol

Çalışmamızda her iki pleytte birinci kuyucuğa bakteri konulmadı, ikinci kuyucuğa negatif kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 ve üçüncü kuyucuğa pozitif kontrol olarak *K. pneumoniae* ATCC 700603 konuldu. OD_c değeri olarak *E. coli* 'nin ölçülen OD'lerinin ortalaması alınmıştır. Mikropleytlerden birinin spektrofotometrede okutulan görüntüsü şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Mikropleyitin spektrofotometrede okutulan görüntüsü

3.4.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Virölans Genlerinin Varlığının Araştırılması

3.4.4.1 DNA İzolasyonu

Bakterilerin DNA'larının izolasyonu ticari Bakteri Genomik DNA İzolasyon Kiti (Hibrigen, Türkiye) ile üreticisinin tarifine uygun olarak yapıldı.

Bakteri Genomik DNA İzolasyon Kit İçeriği:

1. LB1 Tamponu (50 ml)
2. LB2 Tamponu (18 ml)
3. Proteinaz-K (90 mg)
4. RNaz-A (4 mg)
5. BDY Tamponu (20 ml)
6. BDE Tamponu (10 ml)
7. BE Tamponu (80 ml)
8. Filtreli Tüpler (100 adet)

BDY Tamponu: %100-96'lık Etanol (EtOH) eklendi.

Proteinaz-K: 20 mg/ml olacak şekilde sulandırıldı.

RNaz A: 20 mg/ml olacak şekilde sulandırıldı.

Filtreli tüplerin denge haline gelmesi için üzerlerine 800 µl BE Tamponu eklendi. BE Tamponunun filtreli tüplerden boşalması için santrifüj edildi. Bakteri süslerinin konulacağı mikrosantrifüj tüplerine 1,5 ml FTS konuldu. Bakteri kültürlerinden 0,5–2 ml alınarak içerisinde FTS bulunan mikrosantrifüj tüpüne eklendi. Hücreli çöktürmek için 12000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısım atıldı. Pelet 500 µl LB1 Tamponu içerisinde çözündürüldü. Karışımın içine 2 µl RNaz A eklenerek vortekslendi ve homojen bir karışım oluşturuldu. Daha sonra 45 µl Proteinaz K eklenerek 37 °C de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra 175 µl LB2 Tamponu eklenerek birkaç saniye vortekslendi ve tekrar 50 °C 20 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası karışım 10 saniye vortekslendi ve önceden denge haline getirilmiş filtreli tüplerin üzerine eklendi. Filtreli tüpler 10000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilerek toplama tüpüne süzülen sıvı atıldı. Filtreli tüplere 500 µl BDY Tamponu

eklenerek 12000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi ve toplama tüpüne süzülen sıvı atıldı. En son yapılan aşama ikinci kez tekrarlanarak toplama tüpüne süzülen sıvı tekrar atılır. Filtreli tüpün membranının kuruması için hiçbir sıvı eklenmeden 12000 rpm’de 3 dakika santrifüj edildi ve toplama tüpü süzülen sıvı ile birlikte atıldı. Filtreli tüpler temiz 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne alınarak filtreli tüplerin üzerlerine 60 µl BDE Tamponu eklendi. Oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilen son oluşum 12000 rpm’de 2 dakika santrifüj edildi ve filtreli tüpler atılarak pürifiye edilmiş DNA mikrosantrifüj tüpleri içerisinde -20 °C’de saklandı.

3.4.4.2 mrkA, wbbM, wzm, luxS Genlerinin Amplifiye Edilmesi

mrkA, wbbM, wzm, luxS genlerinin amplifikasyonu Vuotto ve ark. (2017)’nin çalışmalarında tarif ettiği yöntemine uygun olarak yapıldı. mrkA, wbbM, wzm, luxS primer dizinleri ve büyüklükleri Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. mrkA, wbbM, wzm, luxS Primer Dizinleri ve Büyüklükleri

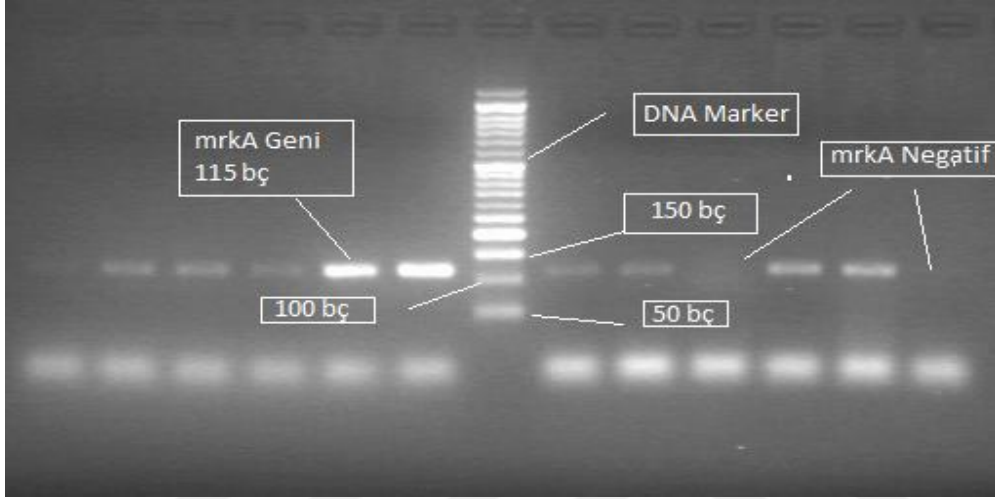
Gen	Primer dizi	Ürün büyüklüğü (bp)
mrkA-FW mrkA-RV	5’-ACGTCTCTAACTGCCAGGC-3’ 5’-TAGCCCTGTTGTTTGCTGGT-3’	115
wbbM-FW wbbM-RV	5’-ATGCGGGTGAGAACAAACCA-3’ 5’-AGCCGCTAACGACATCTGAC-3’	122
wzm-FW wzm-RV	5’-TGCCAGTTCGGCCCACTAAC-3’ 5’-GACAACAATAACCGGGATGG-3’	148
luxS-FW luxS-RV	5’-AGTGATGCCGGAACGCGG-3’ 5’-CGGTGTACCAATCAGGCTC-3’	148

Toplam 25 µl olan amplifikasyon tüpünün içeriği; 15,4 µl distile su, 0,5 µl dNTP (Amligon, Denmark) 2 ünite Taq DNA Polimeraz (Genedirex, Tayvan), 1,5 µl MgCl₂ (Amligon, Denmark), primerlerden (Macrogen, Kore) 1’er µl ve kalıp DNA’dan 3 µl olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon programı 94 °C’de 5 dakika, toplam 30 siklus olacak şekilde 94 °C’de 30 saniye denatürasyon, 58 °C’de 30 saniye bağlanma, 72 °C’de 30 saniye uzama, son siklusu takiben 72 °C’de 10 dakika son uzama işlemi yapıldı.

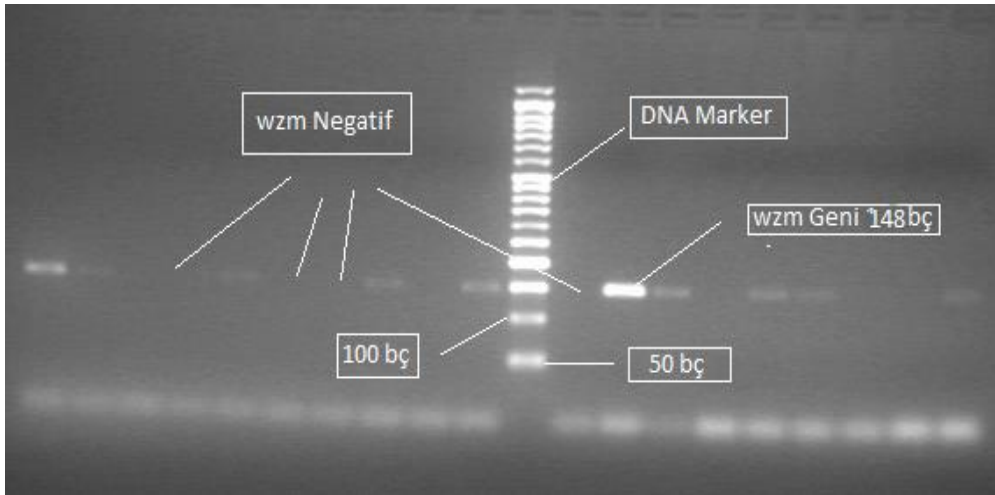
3.4.4.3 Amplifiye Edilen Gen Ürünlerinin Gösterilmesi

Amplifiye edilen PZR ürünleri DNA marker (100-1500 bp) (abm, Kanada) ile birlikte, elektroforez tankında (Wealtec, Elite 300 Plus, Tayvan) bulunan 0.5X TBE

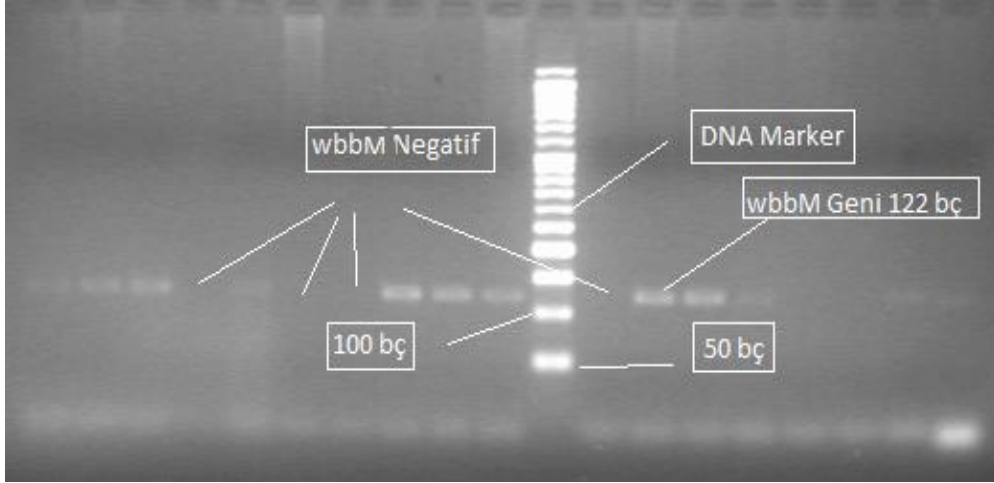
(Thermo Scientific, Litvanya) tamponu içindeki %2'lik agoroz jele 5 µl PZR ürünü, 3 µl yükleme boyası (6X) (Thermo Scientific, Litvanya) ile karıştırılarak yüklendi. Elektroferez tankında 100 Voltta 50 dakika boyunca PZR ürünleri yürütüldü. Yürütme işleminden sonra görüntüleme cihazında (Wealtec Dolphin-View, ABD) mrkA, wbbM, wzm, luxS genlerinin varlığı bç değerlerine göre değerlendirildi.



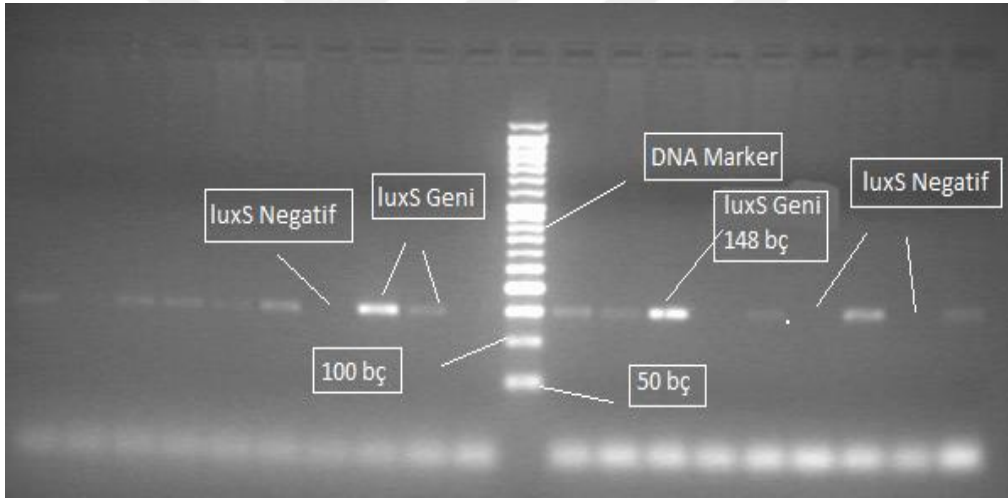
Şekil 3.2. mrkA geninin agaroz jel elektroferezindeki görüntüsü



Şekil 3.3. wzm geninin agaroz jel elektroferezindeki görüntüsü



Şekil 3.4. wbbM geninin agaroz jel elektroferezindeki görüntüsü



Şekil 3.5. luxS geninin agaroz jel elektroferezindeki görüntüsü

3.4.5 İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS programında analiz edildi. Sürekli değişkenler normal dağılım ve varyansların eşitliği yönünden incelendi. İsimsel değişkenler için ki-kare, grup değişkenleri için Fisher'ın kesin testi kullanıldı. Verilerin sunumunda frekans ve yüzde dağılımları kullanıldı. Anlamlılık sınırı olarak 0,05 kabul edildi.

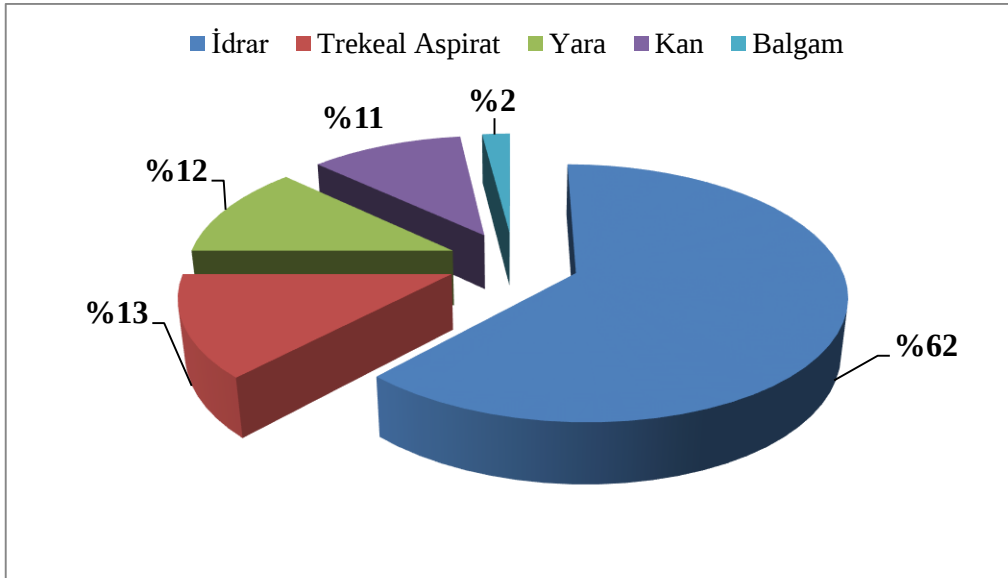
4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen *K. pneumoniae* suşlarının %30'u yoğun bakım ünitelerinden, %31'inin polikliniklerden ve %39'nun servislerden gönderilen klinik örneklerden izole edildiği tespit edildi (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının izole edilen örneklerin kliniklere göre dağılımı

Klinikler	<i>Klebsiella pneumoniae</i> N=%
Yoğun Bakım Üniteleri	30
Poliklinik	31
Servis	39
Toplam	100

K. pneumoniae suşlarının 62 tanesi (%62) idrar, 13 tanesi (%13) trakeal aspirat, 12 tanesi (%12) yara, 11 tanesi (%11) kan ve iki tanesi (%2) balgamdan izole edildi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı

Kan kültüründen izole edilen 11 *K. pneumoniae* suşunun 8'i (%72,7) karbapeneme dirençli, 3'ü (%27,3) duyarlıydı. İdrar kültürlerinden izole edilen 62 suşun 14'ü (%22,6) karbapenem dirençli, 48'i (%77,4) duyarlıydı. Balgamdan izole edilen 2 suşun 1'i (%50) karbapeneme dirençli, 1'i (%50) duyarlıydı. Trekeal aspirattan izole edilen 13 suşun 5'i (%38,9) karbapeneme dirençli, 8'i (%61,5) duyarlıydı. Yara kültüründen izole edilen 12 suşun 6'sı (%50) karbapenem dirençli, 6'sı (%50) duyarlıydı. Suşların izole edildiği örnek ve karbapenem direnci karşılaştırıldığında kan kültüründen izole edilen suşlardaki direnç oranı daha fazla, idrar, trakeal aspirattan izole edilenlerde karbapenem duyarlılık oranı daha fazla, balgam ve yara örneklerinden izole edilenlerde oran eşit bulundu ($p=0,003$). Suşların izole edildikleri örnek ve karbapenem duyarlılık durumları çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

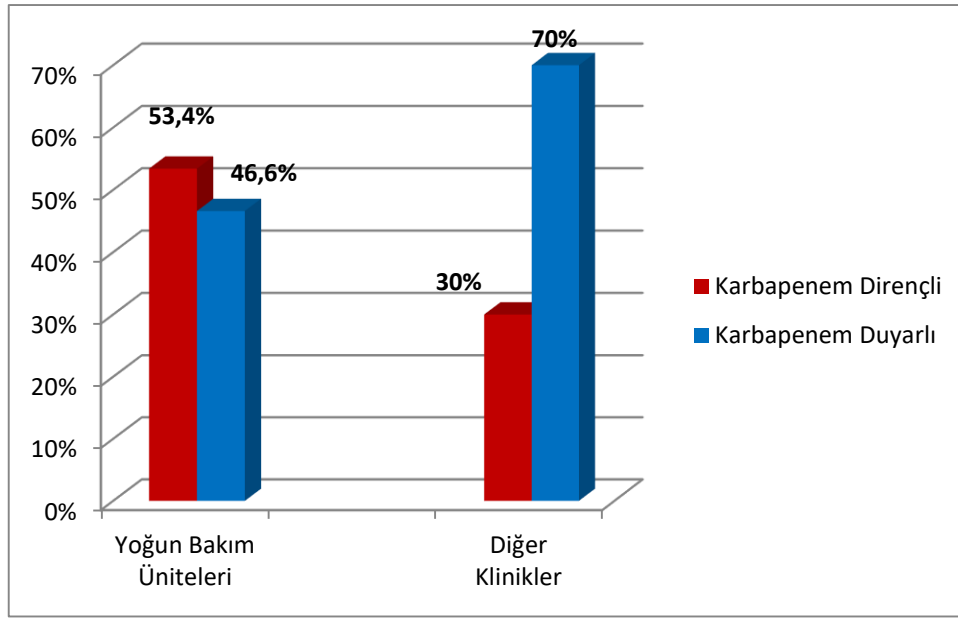
Çizelge 4.2. *K. pneumoniae* suşlarının izole edildikleri örnek türleri ve karbapenem duyarlılık durumları

Örnek	Karbapenem Duyarlılığı N(%)	Karbapenem Direnci N(%)	Toplam N(%)	P
Kan	3 (27,3)	8 (72,7)	11 (11)	P=0,003
İdrar	48 (77,4)	14 (22,6)	62 (62)	
Balgam	1 (50)	1 (50)	2 (2)	
Trakeal Aspirat	8 (61,5)	5 (38,9)	13 (2)	
Yara	6 (50)	6 (50)	12 (12)	
Toplam	63 (63)	37 (37)	100	

K. pneumoniae izole edilen klinik örneklerin %30'u yoğun bakım ünitelerinden, %70'inin diğer kliniklerden gönderildiği tespit edildi (Çizelge 4.3). Yoğun bakım ünitelerinden gönderilen örneklerden izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında karbapenem direnci %53,4 diğer kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında ise karbapenem direnci %30 bulundu. Karbapenem direnci ile örneğin gönderildiği klinik arasında istatistiksel bir ilişki bulunmadı ($p=0,070$) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.2).

Çizelge 4.3. Yoğun bakım üniteleri ve diğer kliniklerden izole edilen *K. pneumoniae* suşlarının karbapeneme duyarlılık durumları

Klinik	Karbapenem Dirençli N (%)	Karbapenem Duyarlı N (%)	Toplam N (%)	P
Yoğun Bakım Üniteleri	16 (53,4)	14 (46,6)	30 (100)	0,070
Diğer Klinikler	21 (30)	49 (70)	70 (70)	
Toplam	37 (37)	63 (63)	100 (100)	



Şekil 4.2 Yoğun bakım ve diğer kliniklerden izole edilen suşların karbapenem duyarlılığı

Karbapenem dirençli olan *K. pneumoniae* suşlarının hepsi ampisilin (%100), AMC (%100), sefuroksim (%100) ve PTZ (%100)'ye dirençliydi. Bu grubun en fazla dirençli olduğu diğer antibiyotikler; seftazidim (%97,3), sefoksitin (%97,3), sefuroksim aksetil (%97,3) ve siprofloksasin olarak tespit edildi (Çizelge 4.4).

Karbapenem duyarlı olan *K. pneumoniae* suşlarının en fazla dirençli olduğu antibiyotikler ise ampisilin (%100), sefuroksim (%53,9), sefuroksim aksetil (%52,4), AMC (%47,6) ve seftriakson (%47,6) olarak saptandı (Çizelge 4.4).

Karbapeneme dirençli suşlar amoksisilin/klavulanik asit (AMC), piperasillin/tazobaktam (PTZ), sefoksitin, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, sefuroksim

aksetil (CXA), amikasin, siprofloksasin ve trimetoprim/sülfametaksazole (SXT), karşı karbapeneme duyarlı olanlardan daha dirençli olarak saptandı (Çizelge 4.4) ($p<0,001$).

Çizelge 4.4 Karbapenem duyarlı ve dirençli suşların diğer antibiyotiklere direnç durumu

Antibiyotik	Karbapenem Dirençli		Karbapenem Duyarlı		Toplam		p
	N	%	N	%	N	%	
Ampisilin	37	100	63	100	100	100	<0,001
AMC*	37	100	30	47,6	67	67	<0,001
PTZ**	37	100	13	20,6	50	50	<0,001
Seftazidim	36	97,3	29	46,0	65	65	<0,001
Sefoksitin	36	97,3	6	9,5	42	42	<0,001
Sefuroksim	37	100	34	53,9	71	71	<0,001
CXA***	36	97,3	33	52,4	69	69	<0,001
Seftriakson	37	100	30	47,6	67	67	<0,001
Meropenem	22	59,5	0	0	22	22	<0,001
Ertapenem	37	100	0	0	37	37	<0,001
Gentamisin	12	32,4	12	19,1	24	24	0,130
Amikasin	20	54,1	2	3,2	22	22	<0,001
Siprofloksasin	34	91,9	19	30,2	53	53	<0,001
SXT†	24	64,9	22	34,9	46	46	0,004
Toplam	37	100	63	100	100	100	

AMC*: Amoksisilin Klavulanik asit

PTZ**: Piperasilin/tazobaktam

CXA***: Sefuroksim Aksetil

SXT† : Trimetoprim/sülfametaksazol

Karbapenem dirençli suşlardaki MİK değerleri karbapenem duyarlı olan suşların MİK değerlerinden daha yüksek bulundu. Gentamisindeki MİK oranları her iki grupta aynı olduğu görüldü. Karbapenem duyarlı ve dirençli olan suşlarına karşı antibiyotiklerin Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Antibiyotiklerin karbapenem duyarlı ve dirençli *K. pneumoniae* suşlarına karşı Minimum İnhibitör Konsantrasyon Değerleri

Antibiyotik	Karbapenem Duyarlı			Karbapenem Dirençli		
	Ortanca (Min-Maks) MİK† (µg/ml)	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)	Ortanca (Min-Maks) MİK (µg/ml)	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Ampisilin	32 (3-32)	32	32	32 (32-32)	32	32
AMC*	8 (2-32)	8	32	32 (32-32)	32	32
PTZ**	4 (4-128)	4	32	128 (32-320)	128	128
Sefiksim	0,75 (0,25-32)	0,5	4	4 (0,25-32)	4	32
Seftazidim	0,5 (0,12-64)	0,5	32	48 (0,25-64)	32	64
Sefoksitin	4 (4-64)	4	8	64 (4-64)	64	64
Sefuroksim	24 (1-64)	16	64	64 (4-64)	64	64
Seftriakson	0,25 (0,25-64)	0,25	64	64 (0,5-64)	64	64
Meropenem	0,25 (0,25-0,25)	0,25	0,25	16 (0,25-16)	16	16
Ertapenem	0,12 (0,12-0,25)	0,12	0,12	8 (1-8)	8	8
Gentamisin	1 (1-16)	1	16	1 (1-16)	1	16
Amikasin	2 (2-64)	2	2	16 (2-64)	2	64
Siprofloksasin	0,25 (0,25-4)	0,25	4	4 (0,25-4)	4	4
SXT***	20 (20-320)	20	320	320 (20-320)	320	320

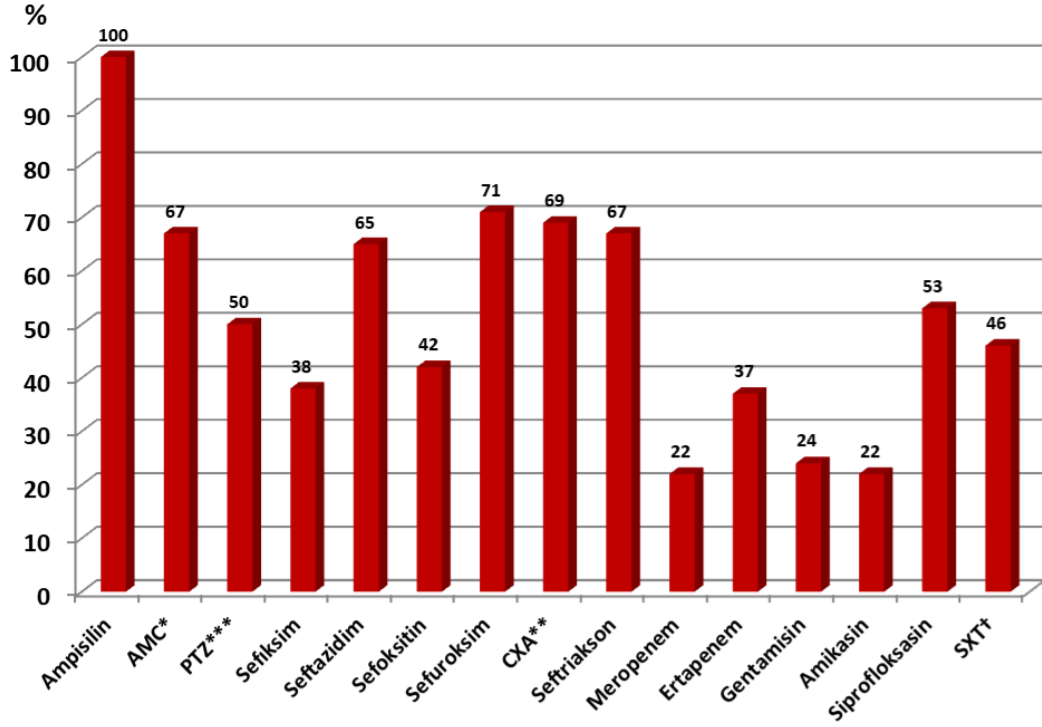
AMC*: Amoksisilin/Klavulanik Asit

PTZ**: Piperasilin/Tazobaktam

SXT***: Trimetoprim/sülfametaksazol

MİK†: Minimum İnhibitör Konsantrasyon

K. pneumoniae ampisiline doğal olarak dirençli bir bakteri olduğu için bütün suşların ampisiline (%100) dirençli olduğu görüldü. Suşların sırasıyla antibiyotiklere direnç durumu; ampisilin (%100), sefuroksim (%71), sefuroksim aksetil (%69), AMC (%67), seftriakson (%67), seftazidim (%65), siprofloksasin (%53), PTZ (%50), SXT (%46), sefoksitin (%42), sefiksim (%38), gentamisin (%24), meropenem (%22), ertapenem (%37), amikasin (%22) şeklinde belirlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Çalışmaya alınan *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere direnç oranı

K. pneumoniae suşlarının 1'i (%1) güçlü, 30'unun (%30) orta, 45'inin (%45) zayıf biyofilm ürettiği, 24'ünün (%24) ise biyofilm üremediği belirlendi. Toplamda suşların 76'sının (%76) biyofilm ürettiği saptandı.

Güçlü biyofilm üreten tek suşun karbapeneme dirençli olduğu tespit edildi. Orta düzeyde biyofilm üretimi karbapeneme dirençli (% 56,8) suşlarda duyarlı (%14,3) olanlara göre daha fazla saptandı. Karbapeneme duyarlı suşların %47,6 sı, karbapeneme dirençli suşların %40,5 inde zayıf biyofilm üretimi tespit edildi. Karbapeneme dirençli suşların tamamında güçlü, orta veya zayıf olarak bir şekilde biyofilm üretimi görüldü ancak karbapeneme duyarlı suşların %38,1 inde biyofilm üretimi görülmedi ($p<0,001$). Suşlardaki biyofilm üretimi ve karbapenem direnci arasındaki ilişki çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Suşlardaki biyofilm üretimi ve karbapenem direnci arasındaki ilişki

Biyofilm	Karbapenem Duyarlı N(%)	Karbapenem Dirençli N(%)	Toplam N(%)	P
Güçlü	0 (0)	1 (2,7)	1 (1)	<0,001
Orta	9 (14,3)	21 (56,8)	30 (30)	
Zayıf	30 (47,6)	15 (40,5)	45 (45)	
Yok	24 (38,1)	0 (0)	24 (24)	
Toplam	63 (100)	37 (100)	100 (100)	

Kandan izole edilen 11 suşun tamamında (%100), idrardan izole edilen 62 suşun %70,9’unda, trakeal aspirattan izole edilen 13 suşun %69,2’sinde, balgamdan izole edilen iki suşun birinde (%50), yaradan izole edilen 12 suşun %91,6’sında biyofilm üretimi saptandı. İdrardan izole edilenlerin %29’unda, trakeal aspirattan izole edilenlerin %30,8’inde, balgamdan izole edilenlerin %50’sinde ve yaradan izole edilen bir suşta (%8,3) biyofilm üretimi saptanmadı.

Çalışmaya dahil edilen *K. pneumoniae* suşlarının izole edildiği klinik örnekler ve suşlardaki biyofilm üretimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p=0,103) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Suşların izole edildiği klinik örnekler ve biyofilm üretimi arasındaki ilişki

Biyofilm	Klinik örnekler					Toplam N(%)	P
	Kan N(%)	İdrar N(%)	T. aspirat N(%)	Balgam N(%)	Yara N(%)		
Güçlü	0(0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (8,3)	1	0,103
Orta	4 (36,4)	15 (24,2)	5 (38,5)	1 (50)	5 (41,7)	30	
Zayıf	7 (63,6)	29 (46,8)	4 (30,8)	0 (0)	5 (41,7)	45	
Yok	0 (0)	18 (29)	4 (30,8)	1 (50)	1 (8,3)	24	
Toplam N(%)	11 (100)	62 (100)	13 (100)	2 (100)	12	100	

Çalışmaya dahil edilen *K. pneumoniae* suşlarının 73'ünde (%73) mrkA geni, 68'inde (%68) wzm geni, 57'sinde (%57) wbbM geni, 52'sinde (%52) ise luxS geninin bulunduğu saptandı. *K. pneumoniae* suşlarındaki mrkA, wzm, wbbm ve luxS genlerinin bulunma durumları Çizelge 4.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. Suşlardaki mrkA, wzm, wbbM ve luxS genlerinin dağılımı

Genler	Pozitif N(%)	Negatif N(%)	Toplam
mrkA	73 (73)	27 (27)	100
Wzm	68 (68)	32 (32)	100
wbbM	57 (57)	43 (43)	100
luxS	52 (52)	48 (48)	100

mrkA, wbbM, wzm ve luxS genleri 13 suşta birlikte tespit edilirken, mrkA, wbbM, luxS genleri 18 suşta, mrkA, wbbM ve wzm genleri 9 suşta, wbbm, wzm ve luxS genleri 3 suşta, mrkA, wzm ve luxS genleri 3 suşta birlikte tespit edilmiştir. mrkA ve wzm 2 suşta, mrkA ve wbbM 8 suşta, wbbM ve luxS 2 suşta, mrkA ve luxS 6 suşta birlikte tespit edilmiştir. mrkA 14, luxS 7, wbbM 5 ve wzm 1 suşta tek başlarına tespit edilmiştir. Suşların 9'unda araştırılan genlerden herhangi biri tespit edilemedi.

mrkA genin bulunduğu 73 suşun 57'sinde (%78,1), wbbm geninin saptandığı 57 suşun 43'ünde (%75,4), wzm geninin bulunduğu 32 suşun 25'inde (%78,1) ve luxS geninin saptandığı 52 suşun 39'unda (%75) biyofilm üretimi tespit edilmiştir. Suşlarda tespit edilen genler ve biyofilm oluşturma yeteneği çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Genleri içeren suşların daha fazla oranda biyofilm ürettiği tespit edilmekle birlikte genleri içermeyen suşlarda da biyofilm üretimi oranı fazla olduğu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Çizelge 4.9. mrkA, wbbM, wzm, luxS genlerinin biyofilm üretimi ile ilişkisi

Genler		Biyofilm		Toplam N(%)	P
		Pozitif N (%)	Negatif N (%)		
mrkA	Pozitif	57 (78,1)	16 (21,9)	73 (100)	0,423
	Negatif	19 (70,4)	8 (29,6)	27 (100)	
wbbM	Pozitif	43 (75,4)	14 (24,6)	57 (100)	0,880
	Negatif	33 (76,7)	10 (22,3)	43 (100)	
wzm	Pozitif	25 (78,1)	7 (21,9)	32 (100)	0,733
	Negatif	51 (75)	17 (25)	68 (100)	
luxS	Pozitif	39 (75)	13 (25)	52 (100)	0,807
	Negatif	37 (77,1)	11 (22,9)	48 (100)	

mrkA geninin pozitif olduğu 73 suşun 47'si (%64,4) karbapenem duyarlı, 26'sı (%35,6) karbapenem dirençli olarak saptandı. wbbM geninin pozitif olduğu 57 suşun 37'si (%64,9) karbapenem duyarlı, 20'si (%35,1) karbapenem dirençli olarak tespit edildi. wzm geninin pozitif olduğu 32 suşun 24'ü (%75) karbapenem duyarlı, 8'i (%25) karbapenem dirençli olarak ve luxS geninin pozitif olduğu 52 suşun 33'ü (%63,5) karbapenem duyarlı, 19'u (%36,5) karbapenem dirençli olarak bulundu (Çizelge 4.10).

K. pneumoniae suşlarında varlığı saptanan genlerin karbapenem duyarlılığını etkilemediği tespit edildi ($p>0,05$) (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. mrkA, wbbM, wzm, luxS genlerinin karbapenem duyarlılığı ile ilişkisi

Genler		Karbapenem		Toplam N(%)	P
		Duyarlı N(%)	Dirençli N(%)		
mrkA	Pozitif	47 (64,4)	26 (35,6)	73 (100)	0,637
	Negatif	16 (59,3)	11 (40,7)	27 (100)	
wbbM	Pozitif	37 (64,9)	20 (35,1)	57 (100)	0,648
	Negatif	26 (60,5)	17 (39,5)	43 (100)	
wzm	Pozitif	24 (75)	8 (25)	32 (100)	0,088
	Negatif	39 (57,4)	29 (42,6)	68 (100)	
luxS	Pozitif	33 (63,5)	19 (36,5)	52 (100)	0,921
	Negatif	30 (62,5)	18 (37,5)	48 (100)	

Çalışmaya dahil edilen suşların 65'inin (%65) MDR fenotipinde olduğu tespit edildi. Yoğun bakımda yatan hastalardan izole edilen suşların %63,3'ünün MDR, %36,7'sinin MDR olmadığı belirlendi. Diğer kliniklerden izole edilen suşların %65,7'sinin MDR, %34,3'ünün MDR olmadığı belirlendi. YBÜ ve diğer servislerden izole edilen suşların MDR durumu çizelge 4.11'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. Kliniklere göre suşların çoğul ilaca direnç durumu

Klinik	MDR*		MDR* Değil		Toplam		P
	N	%	N	%	N	%	
Yoğun Bakım Üniteleri	19	63,3	11	36,7	30	100	0,819
Diğer Klinikler	46	65,7	24	34,3	70	100	
Toplam	65	65	35	35	100	100	

*MDR; çoğul ilaca dirençli

Karbapeneme duyarlı suşların %44,4'ünün MDR, %55,6'sının MDR olmadığı tespit edilirken, karbapeneme dirençli suşların tamamının MDR olduğu tespit edildi. Karbapeneme dirençli olan suşlardaki MDR oranı karbapeneme duyarlı olanlardan daha fazla bulundu ($p<0,001$). Karbapenem duyarlılığı ve MDR arasındaki ilişki çizelge 4.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 12. Çoğul ilaca direnç durumu ve karbapenem duyarlılığı arasındaki ilişki

Gruplar	MDR*		MDR* Değil		Toplam		P
	N	%	N	%	N	%	
Karbapenem Duyarlı	28	44,4	35	55,6	63	100	<0,001
Karbapenem Dirençli	37	100	0	0	37	100	
Toplam	65	65	35	35	100	100	

*MDR; çoğul ilaca dirençli

Biyofilm üreten 76 suşun 54'ünün (%71,1) MDR olduğu, 22'sinin (%28,9) MDR olmadığı tespit edilirken biyofilm üretmeyen 24 suşun 11'inin (%45,8) MDR olduğu, 13'ünün (%54,2) MDR olmadığı tespit edilmiştir. Biyofilm üretimi olan suşlardaki MDR oranı daha fazla bulundu ($p=0,024$). Suşların MDR durumu ve biyofilm üretimi çizelge 4.13'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.13. Çoğul ilaca direnç durumu ve biyofilm üretimi arasındaki ilişki

MDR* Durumu	Biyofilm		Toplam N (%)	P
	Pozitif N (%)	Negatif N (%)		
MDR*	54 (71,1)	11 (45,8)	65 (100)	0,024
MDR* Değil	22 (28,9)	13 (54,2)	35 (100)	
Toplam	76 (100)	24 (100)	100	

*MDR; çoğul ilaca dirençli

Biyofilm üreten suşlarda PTZ (p=0,006), seftazidim (p=0,009), sefoksitin (p=0,001), seftriakson (p=0,042), meropenem (p=0,002), ertapenem (p<0,01) ve amikasin (p=0,02) direncinin daha fazla olduğu görüldü (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Suşların antibiyotiklere direnç durumu biyofilm üretimi ile ilişkisi

Antibiyotikler	Biyofilm		Toplam N (%)	P
	Pozitif N (%)	Negatif N (%)		
AMC*	53 (79,1)	14 (20,9)	67 (100)	0,426
PTZ**	44 (88)	6 (12)	50 (100)	0,006
Sefiksim	27 (71,1)	11 (28,9)	38 (100)	0,780
Seftazidim	54 (83,1)	11 (16,9)	65 (100)	0,009
Sefoksitin	39 (92,9)	3 (7,1)	42 (100)	0,001
Sefuroksim	57 (80,39)	14 (19,7)	71 (100)	0,117
CXA***	55 (79,7)	14 (20,3)	69 (100)	0,164
Seftriakson	55 (82,1)	12 (17,9)	67 (100)	0,042
Meropenem	22 (100)	0 /09	22 (100)	0,002
Ertapenem	37 (100)	0 (0)	37 (100)	<0,001
Gentamisin	18 (75)	6 (25)	24 (100)	1
Amikasin	21 (95,5)	1 (4,5)	26 (100)	0,022
Siprofloksasin	45 (84,9)	8 (15,1)	53 (100)	0,052
SXT†	38 (82,6)	8 (17,4)	46 (100)	0,153

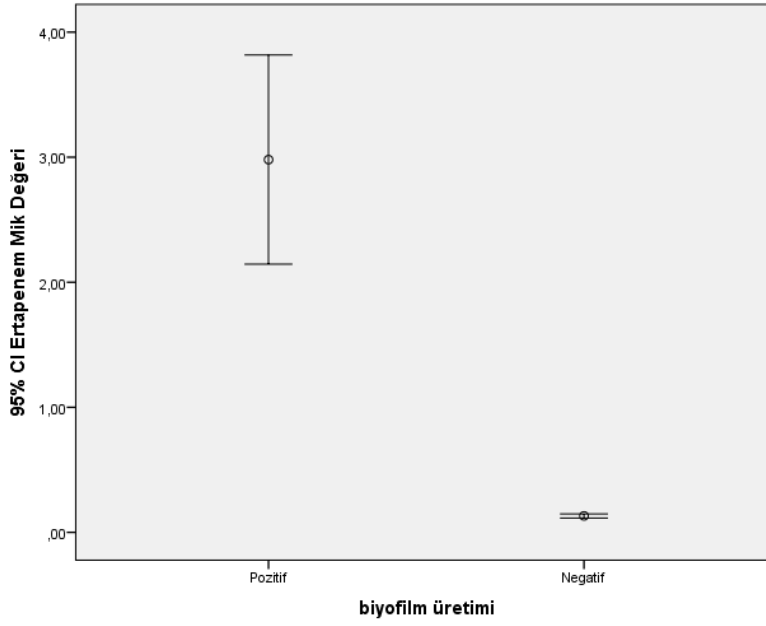
AMC*: Amoksisilin Klavulanik asit

PTZ**: Piperasilin/tazobaktam

CXA***: Sefuroksim Aksetil

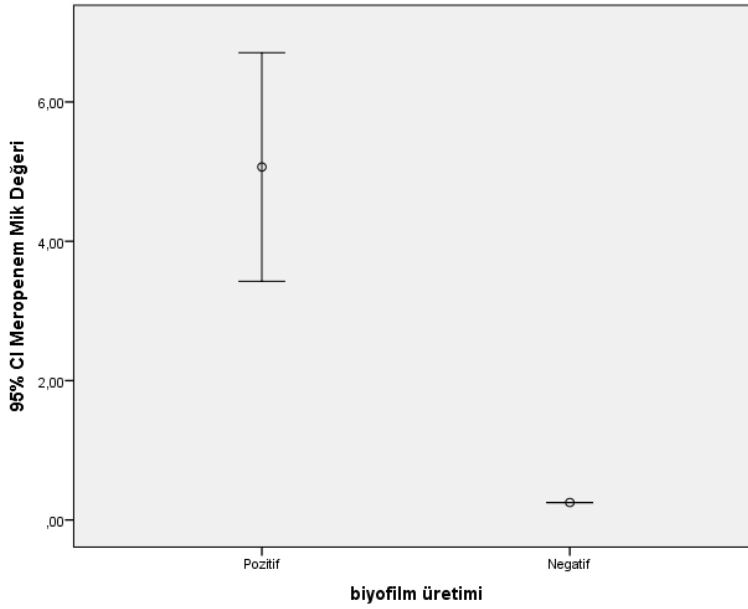
SXT† : Trimetoprim/sülfametaksazol

Biyofilm üreten *K. pneumoniae* suşlarında ertapenem MİK değerleri, biyofilm üretmeyen suşlardakinden daha yüksek bulundu (p<0,001) (Şekil 4.4).



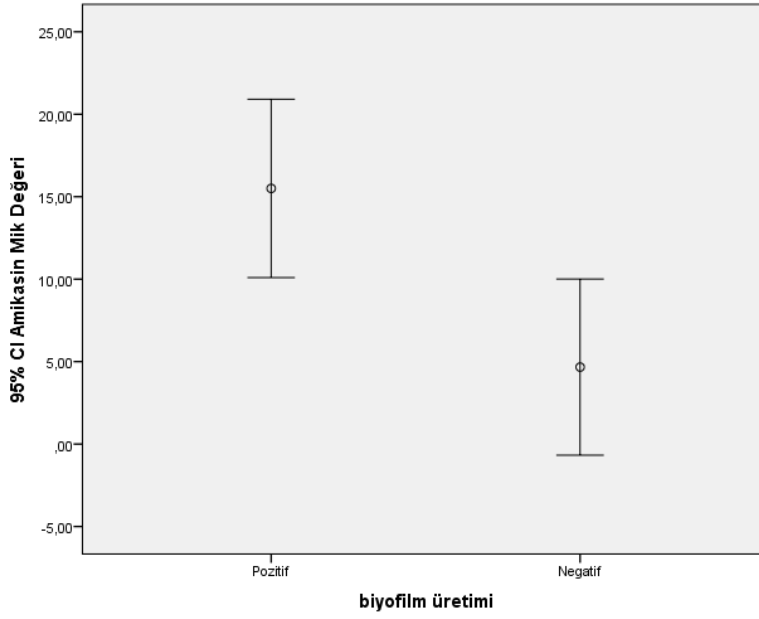
Şekil 4.4. Suşlardaki ertapenem MİK değerleri ve biyofilm üretimi

Biyofilm üreten *K. pneumoniae* suşlarında meropenem MİK değerleri, biyofilm üretmeyen suşlardakinden daha yüksek bulundu ($p=0,002$) (Şekil 4.5).



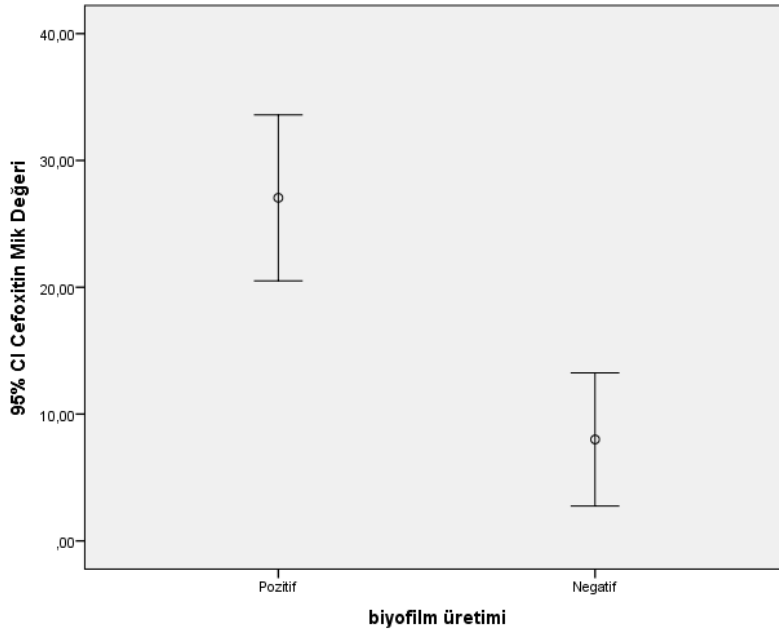
Şekil 4.5. Suşlardaki meropenem MİK değerleri ve biyofilm üretimi

Biyofilm üreten *K. pneumoniae* suşlarında amikasin MİK değerleri, biyofilm üretmeyen suşlardakinden daha yüksek bulundu ($p=0,022$) (Şekil 4.6).



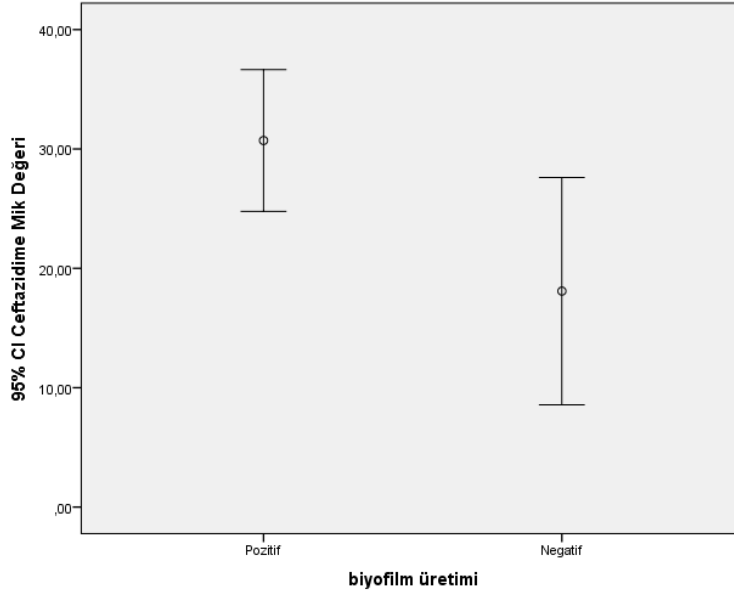
Şekil 4.6. Suşlardaki amikasin MİK değerleri ve biyofilm üretimi

Biyofilm üreten *K. pneumoniae* suşlarında sefoksitin MİK değerleri, biyofilm üretmeyen suşlardakinden daha yüksek bulundu ($p=0,001$) (Şekil 4.7).



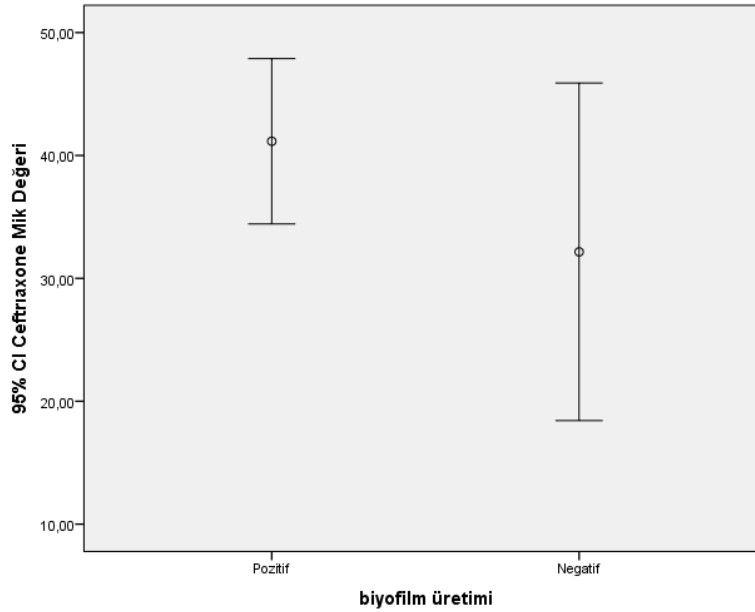
Şekil 4.7. Suşlardaki sefoksitin MİK değerleri ve biyofilm üretimi

Biyofilm üreten *K. pneumoniae* suşlarında seftazidim MİK değerleri, biyofilm üretmeyen suşlardakinden daha yüksek bulundu ($p=0,009$) (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Suşlardaki seftazidim MİK değerleri ve biyofilm üretimi

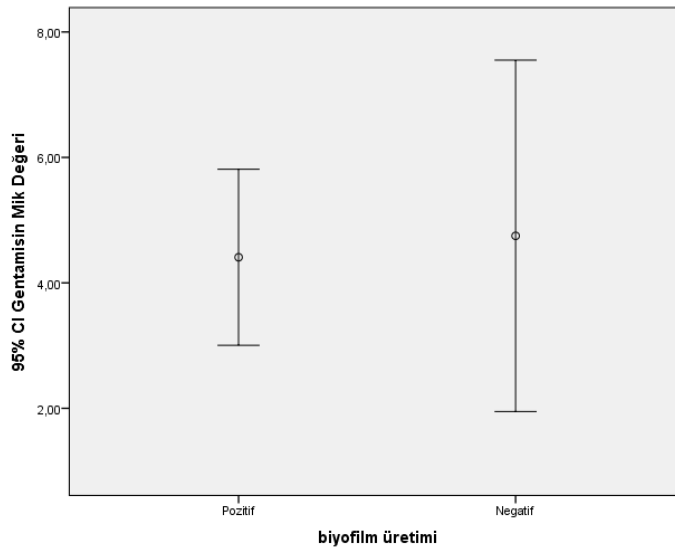
Biyofilm üreten *K. pneumoniae* suşlarında seftriakson MİK değerleri, biyofilm üretmeyen suşlardakinden daha yüksek bulundu ($p=0,042$) (Şekil 4.9).



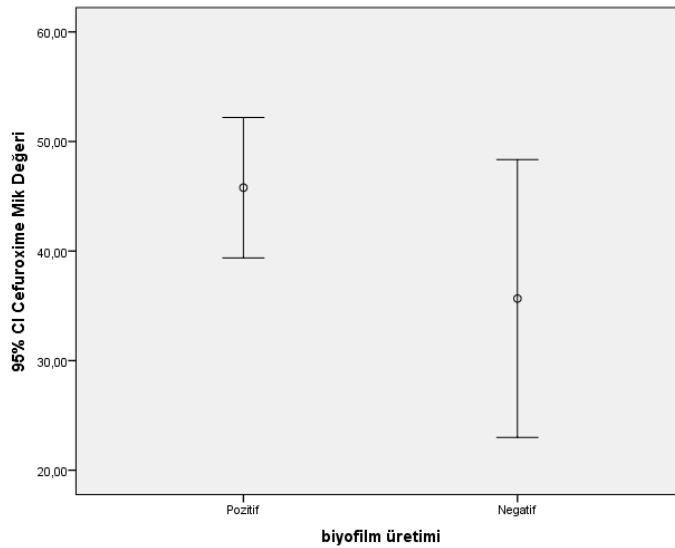
Şekil 4.9. Suşlardaki seftriakson MİK değerleri ve biyofilm üretimi

Suşlardaki AMC ($p=0,426$), sefiksim ($p=0,780$), sefuroksim ($p=0,117$), CXA ($p=0,164$), gentamisin ($p=1$), siprofloksasin ($p=0,052$), SXT ($p=0,153$) direnci ile biyofilm üretimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4.14).

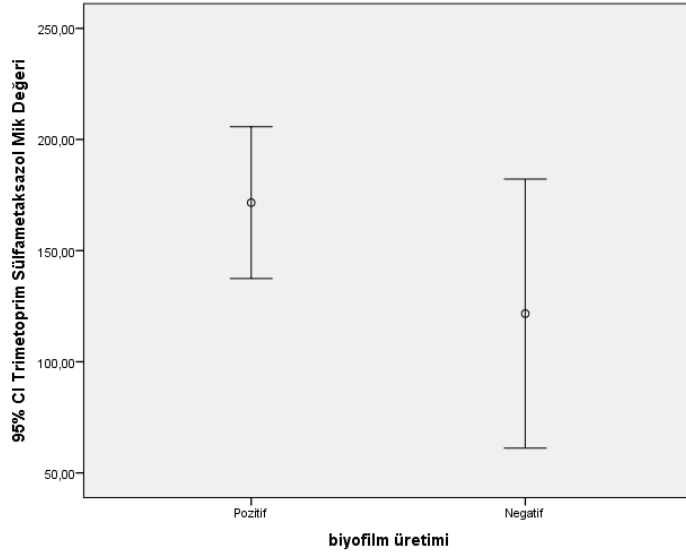
Antibiyotik direnci ve biyofilm üretimi ilişkili bulunmayan suşlardaki gentamisin, sefuroksim, SXT, siprofloksasin, sefiksim, MİK değeri sırasıyla Şekil 4.10. , Şekil 4.11. , Şekil 4.12. , Şekil 4.13. , Şekil 4.14. de gösterilmiştir.



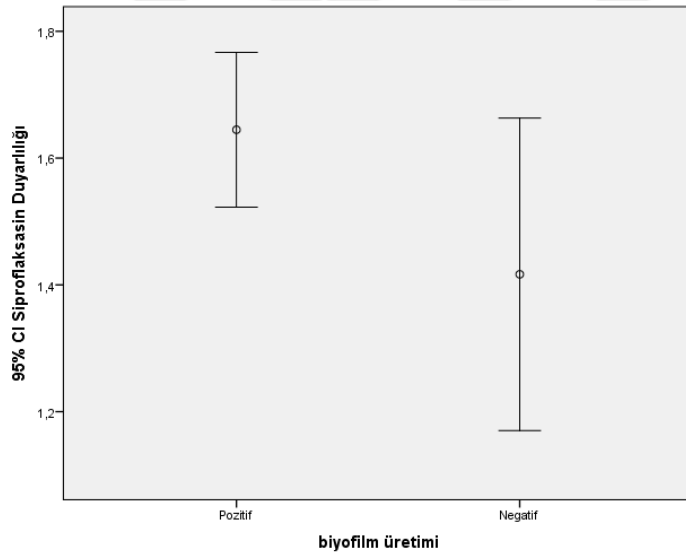
Şekil 4.10. Suşlardaki gentamisin MİK değeri ve biyofilm üretimi



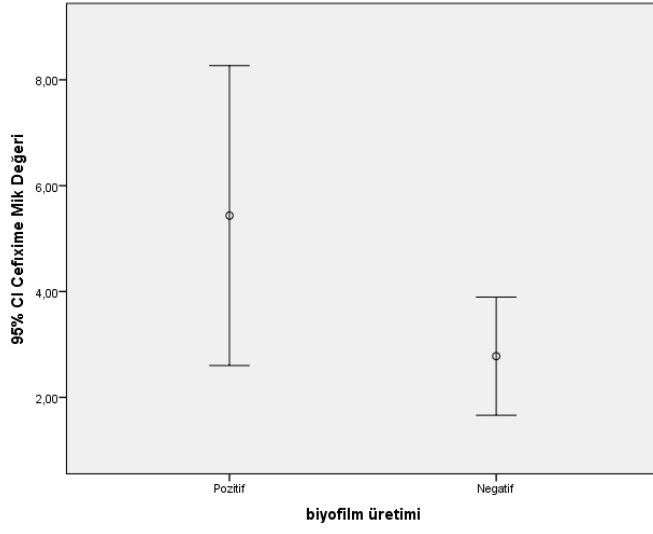
Şekil 4.11. Suşlardaki sefuroksim MİK değeri ve biyofilm üretimi



Şekil 4.12. Suşlardaki trimetoprim/sülfametaksazol MİK değerleri ve biyofilm üretimi



Şekil 4.13. Suşlardaki siprofloksasin MİK değerleri ve biyofilm üretimi



Şekil 4.14. Suşlardaki sefiksim MİK değerleri ve biyofilm üretimi

Çizelge 4.15. Suşların izole edildiği klinik, örnek türü, gen varlığı, MDR durumu, biyofilm üretimi ve antibiyotik duyarlılık durumu

No	Klinik*	Örnek**	Genler***				MDR†	CRP††	Biyofilm Üretimi	Antibiyotik Duyarlılıkları†††													
			mrkA	wbbM	Wzm	luxS				ETP	MEM	AK	AMP	CİP	AMC	SXT	PTZ	GN	FOX	CAZ	CRO	CXM	CXA
1	YB	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	R	Zayıf	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
2	SRV	Yara	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Orta	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
3	POL	Yara	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	R	Güçlü	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
4	YB	Tr. asp.	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Orta	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
5	YB	Tr. asp.	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	R	Zayıf	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
6	YB	İdrar	Poz.	Neg.	Neg.	Poz.	Evet	R	Zayıf	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
7	SRV	İdrar	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Orta	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
8	YB	Tr. asp.	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Orta	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
9	POL	İdrar	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Orta	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
10	SRV	Kan	Poz.	Neg.	Neg.	Poz.	Evet	R	Zayıf	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
11	YB	Kan	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Zayıf	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
12	SRV	İdrar	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Zayıf	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
13	SRV	Kan	Poz.	Neg.	Poz.	Neg.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	I	S	R	S	S	S	R	R	R	R
14	YB	Kan	Neg.	Poz.	Poz.	Poz.	Evet	R	Zayıf	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
15	POL	İdrar	Neg.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	I	S
16	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Evet	R	Zayıf	R	S	S	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R
17	POL	İdrar	Poz.	Neg.	Neg.	Poz.	Evet	S	Orta	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R
18	YB	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	I	S
19	YB	Balg	Poz.	Poz.	Poz.	Neg.	Evet	R	Orta	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
20	SRV	İdrar	Neg.	Neg.	Neg.	Poz.	Evet	R	Orta	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R

Çizelge 4.15'in devamı. Suşların izole edildiği klinik, örnek türü, gen varlığı, MDR durumu, biyofilm üretimi ve antibiyotik duyarlılık durumu

No	Klinik*	Örnek**	Genler				MDR***	CRB†	Biyofilm Üretimi	Antibiyotik Duyarlılıkları†††													
			mrkA	wbbM	wzm	luxS				ETP	MEM	AK	AMP	Cip	AMC	SXT	PTZ	GN	FOX	CAZ	CRO	CXM	CXA
21	SRV	Balgam	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	I	S
22	SRV	Yara	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R
23	POL	İdrar	Neg.	Poz.	Poz.	Poz.	Hayır	S	Orta	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
24	YB	Tr. asp.	Poz.	Neg.	Poz.	Poz.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	R	S	R	S	S	I	S	I	S
25	SRV	Yara	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	R
26	SRV	İdrar	Poz.	Neg.	Poz.	Poz.	Evet	S	Negatif	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	R	R	R	R
27	POL	Yara	Neg.	Neg.	Neg.	Poz.	Evet	S	Zayıf	S	S	I	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R
28	SRV	İdrar	Poz.	Neg.	Neg.	Poz.	Hayır	S	Orta	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
29	YB	İdrar	Neg.	Poz.	Poz.	Poz.	Evet	S	Negatif	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	I	R	R	R
30	YB	İdrar	Poz.	Neg.	Neg.	Poz.	Evet	S	Negatif	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R
31	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
32	POL	İdrar	Poz.	Neg.	Neg.	Poz.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	R	S	R	I	R	S	R	R	R	R
33	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
34	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Neg.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
35	POL	İdrar	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R
36	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Neg.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	R	S	S	I	S	R	R	R	R	R
37	SRV	Yara	Poz.	Poz.	Poz.	Neg.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
38	POL	Yara	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	S	Orta	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R
39	POL	İdrar	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Orta	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
40	SRV	İdrar	Neg.	Neg.	Poz.	Poz.	Hayır	S	Orta	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S

Çizelge 4.15'in devamı. Suşların izole edildiği klinik, örnek türü, gen varlığı, MDR durumu, biyofilm üretimi ve antibiyotik duyarlılık durumu

No	Klinik*	Örnek**	Genler***				MDR†	CRP††	Biyofilm Üretimi	Antibiyotik Duyarlılıkları†††													
			mrkA	wbbM	Wzm	luxS				ETP	MEM	AK	AMP	CiP	AMC	SXT	PTZ	GN	FOX	CAZ	CRO	CXM	CXA
41	SRV	Yara	Neg.	Neg.	Neg.	Poz.	Evet	R	Orta	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
42	POL	İdrar	Neg.	Neg.	Neg.	Poz.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	S	S	I	S	S	S	S	I	S
43	SRV	İdrar	Neg.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	R	Orta	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
44	YB	Tr. asp.	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Evet	R	Orta	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
45	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Evet	R	Orta	R	S	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
46	SRV	Yara	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Orta	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
47	YB	Tr. asp.	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Evet	R	Zayıf	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
48	YB	Tr. asp.	Poz.	Neg.	Poz.	Poz.	Evet	R	Zayıf	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
49	YB	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Neg.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R
50	YB	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
51	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	R	Zayıf	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
52	POL	Tr. asp.	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	R	Orta	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
53	YB	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	S	S	I	S	R	S	S	R	R
54	SRV	İdrar	Neg.	Neg.	Neg.	Poz.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R
55	SRV	İdrar	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
56	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	S	Zayıf	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R
57	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
58	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Evet	S	Negatif	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	I	S
59	YB	Kan	Poz.	Poz.	Poz.	Neg.	Evet	R	Orta	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
60	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Evet	S	Negatif	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R

Çizelge 4.15'in devamı. Suşların izole edildiği klinik, örnek türü, gen varlığı, MDR durumu, biyofilm üretimi ve antibiyotik duyarlılık durumu

No	Klinik*	Örnek**	Genler***				MDR†	CRP††	Biyofilim Üretimi	Antibiyotik Duyarlılıkları†††													
			mrkA	wbbM	wzm	luxS				ETP	MEM	AK	AMP	CiP	AMC	SXT	PTZ	GN	FOX	CAZ	CRO	CXM	CXA
61	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Neg.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	R	R	R	I	S	S	R	R	R	R
62	POL	İdrar	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	S	Negatif	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R
63	POL	İdrar	Neg.	Poz.	Neg.	Neg.	Evet	R	Zayıf	R	R	S	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R
64	SRV	Yara	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Orta	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
65	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Neg.	Evet	S	Negatif	S	S	S	R	I	S	R	S	S	S	R	R	R	R
66	YB	Tr. asp.	Poz.	Poz.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	I	S
67	POL	İdrar	Poz.	Neg.	Poz.	Neg.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R
68	SRV	İdrar	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Zayıf	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
69	SRV	Yara	Poz.	Poz.	Neg.	Neg.	Evet	R	Zayıf	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
70	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	R	Orta	R	S	I	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
71	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	R	Orta	R	I	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
72	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Neg.	Evet	S	Negatif	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R
73	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	S	Orta	S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
74	SRV	Kan	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R
75	YB	Kan	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	R	Orta	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
76	YB	Tr. asp.	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Orta	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
77	YB	Tr. asp.	Neg.	Poz.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Negatif	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	I	S
78	YB	Kan	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
79	YB	Tr. asp.	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
80	POL	İdrar	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	R	S	I	S	S	S	S	R	R

Çizelge 4.15'in devamı. Suşların izole edildiği klinik, örnek türü, gen varlığı, MDR durumu, biyofilm üretimi ve antibiyotik duyarlılık durumu

No	Klinik*	Örnek**	Genler***				MDR†	CRP††	Biyofilm Üretimi	Antibiyotik Duyarlılıkları†††													
			mrkA	wbbM	Wzm	luxS				ETP	MEM	AK	AMP	CİP	AMC	SXT	PTZ	GN	FOX	CAZ	CRO	CXM	CXA
81	YB	Kan	Neg.	Poz.	Neg.	Neg.	Evet	R	Orta	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
82	YB	Tr. asp.	Neg.	Neg.	Neg.	Poz.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
83	SRV	Kan	Poz.	Poz.	Neg.	Neg.	Evet	R	Orta	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
84	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	R	R	R
85	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
86	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Evet	S	Negatif	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
87	SRV	Yara	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	S	Negatif	S	S	S	R	R	R	R	I	R	S	R	R	R	R
88	YB	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Poz.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
89	YB	Kan	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Evet	R	Zayıf	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
90	SRV	İdrar	Neg.	Neg.	Neg.	Poz.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
91	POL	İdrar	Neg.	Poz.	Neg.	Neg.	Evet	S	Negatif	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
92	SRV	İdrar	Neg.	Poz.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
93	YB	İdrar	Poz.	Poz.	Neg.	Poz.	Hayır	S	Negatif	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
94	SRV	İdrar	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Orta	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
95	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Neg.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	I	S	R	S	S	S	R	R	R	R
96	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Neg.	Hayır	S	Orta	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
97	POL	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Neg.	Evet	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	R
98	POL	İdrar	Poz.	Neg.	Neg.	Neg.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
99	POL	İdrar	Poz.	Neg.	Poz.	Poz.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	I	S
100	SRV	İdrar	Poz.	Poz.	Poz.	Neg.	Hayır	S	Zayıf	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S

Servis*; YB:Yoğun Bakım, POL: Poliklinik, SRV:Servis Örnek**; Tr.Asp.:Trekeal aspirat Genler***; Poz;Pozitif, Neg:Negatif, MDR†; Çoklu İlaça Dirençli CRB††; Karbapenem direnci, R; Dirençli, S; Duyarlı, Antibiyotik Duyarlılıkları†††; ETP:Ertapenem,, MEM:Meropenem, AK:Amikasin, AMP:Ampisilin, CİP:Siprofloksasin, AMC:Amoksisilin Klavulanik Asit, SXT:Trimetoprim/Sulfametoksazol, PTZ: Piperasilin/Tazobaktam, GN: Gentamisin, FOX: Sefoksitin, CAZ: Seftazidim, CRO:Seftriakson, CXM: Sefuroksim, CXA:SefuroksimeAksetil

TARTIŞMA

İdrar yolu enfeksiyonları başta olmak üzere, pnömoni, piyojenik karaciğer apsesi, yenidoğan sepsisi, yara ve yumuşak doku enfeksiyonu, safra yolu enfeksiyonları ve osteomyelit gibi çok çeşitli enfeksiyonlar meydana getiren *K. pneumoniae* mortalite ve morbiditesi yüksek, hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonların artmasına neden olan ciddi bir patojendir (Spagnolo ve ark. 2014).

K. pneumoniae neden olduğu enfeksiyonlardan ötürü birçok ülkede morbidite ve mortalite oranlarını artırarak sağlık sistemleri üzerine ağır yükler bindirmektedir. Cai ve ark. (2017) Singapur'da hastane kaynaklı bakteriyel enfeksiyonların prevalansını araştırdıkları çalışmalarında *K. pneumoniae*'nin *E. coli* ve *P. aeruginosa*'dan sonra en fazla enfeksiyon meydana getiren bakteri olduğunu bildirmişlerdir.

K. pneumoniae temel olarak solunum yolları, üriner sistem ve kan dolaşımı gibi ciddi enfeksiyonlara neden olması dışında yoğun bakımda yatan hastalarda hastane kaynaklı enfeksiyonların artmasına neden olur (WHO 2017).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda *K. pneumoniae* suşlarının en fazla idrar örneklerinden izole edildiği görülmektedir. Parlak ve ark. (2012) izole ettikleri 994 *K. pneumoniae* suşunun %47,9'unun idrar, %17,1'inin trekeal aspirat, %10,9'unun kan, %6,9'unun yaradan daha az oranlarda diğer örneklerden izole edildiğini bildirmişlerdir. Kuş ve ark. (2017) 2011-2013 yılları arasında 53 *K. pneumoniae* suşunun %26,4'ünü idrardan, %24,5'ini kandan, %18,9'unu drenaj sıvısından, %15,1'ini yara örneklerinden, %13,2'sini bronkoalveoler lavajdan ve %1,9'unu beyin omurilik sıvısından (BOS) izole etmişlerdir. Kahraman ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada *K. pneumoniae* suşlarını sıklıkla idrardan (%48), kandan (%10), yaradan (%9), trakeal aspirat (%6), balgamdan (%2) izole etmişlerdir.

Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda Ballen ve ark. (2021) *K. pneumoniae*'nin antibiyotik direnci ve virülans profilleri ile ilgili yaptıkları çalışma için 2016-2017 tarihleri arasında topladıkları suşların 57'sini (%44,9) idrardan, 37'sini (%29,1) balgam, trekeal aspirat gibi solunum örneklerinden, 33'ünü (%26) kandan izole etmişlerdir. Mirzaie ve Ranjbarilgili (2021) çalışmalarında Tahran'da Ocak 2018 ve Temmuz 2019 tarihleri arasında çalışmaya dahil ettikleri 100 *K. pneumoniae* suşunun izole edildiği klinik örnek

dağılımı; %70 idrar, %20 kan, %6 balgam, %4 BOS şeklindeydi. Bizim çalışmamızda *K. pneumoniae*'nin izole edildiği klinik örnekler sırasıyla; idrar (%62), trekeal aspirat (%13), yara (%12), kan (%11) ve balgam (%2) idi. Diğer çalışmalarda ve bizim çalışmamızda görüldüğü üzere *K. pneumoniae*'nin en çok izole edildiği klinik örnek idrar olmuştur. İdrardan sonra kan, yara, solunum örnekleri (balgam, trekeal aspirat vb.) *K. pneumoniae*'nin izole edildiği diğer klinik örneklerdir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda Kuş ve ark. (2017) 53 *K.pneumoniae* suşlarının 19'unu (%35,8) yenidoğan ve reanimasyon yoğun bakım ünitesinden, 8'ini (%15,1) tıbbi onkoloji servisinde ve 26'sını (%49) diğer kliniklerde yatan hastalardan; Samsatı ve ark. (2019) topladıkları 91 adet karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarının % 49,5'ini yoğun bakımlardan gönderilen örneklerden, % 50,5'ini yoğun bakım dışı bölümlerden gönderilen örneklerden izole etmiştir. Telli'nin (2022) *K. pneumoniae*'nin 2012-2020 yılları arasında değişen karbapenem direncini ve rol alan genleri araştırmak için izole ettiği 291 suşun servislere göre dağılımı; dâhili servisler (%40), yoğun bakımlar (%36), cerrahi servisler (%15) şeklinde olmuştur.

Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda Shadkam ve ark. (2021) İran'da yaptıkları kitlesel çalışma için Nisan 2016–Ocak 2017 tarihleri arasında topladıkları 100 *K. pneumoniae* suşunun %36'sını yoğun bakımlardan, %64'ünü diğer servislerden izole etmişlerdir. Sanikhani ve ark. (2021) hipervirülan *K. pneumoniae*'nin prevalansını, epidemiyolojisini ve moleküler dinamiğini araştırmak için klinik örnekten izole edilen 102 tane suşun %51'ini yoğun bakım ünitesinden, %12,7'sini dahiliyeden, %10,8'ini cerrahiden ve %8,8'ini acil servisten izole etmişlerdir. Aires-de-Sousa ve ark. (2019) Portekiz'de bir hastanede karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*'nin epidemiyolojisini incelemek için topladıkları 46 suşun %15,2'sini yoğun bakım ünitelerinden izole etmişlerdir. Bizim çalışmamızda izole edilen suşların %30'u (n:30) yoğun bakımda yatan hastalardan izole edilirken, %70'i (poliklinik: 30, klinik: 31) diğer kliniklerden izole edilmiştir. Bizim ve diğerlerinin yaptığı çalışmalarda toplanan suşların önemli bir kısmının yoğun bakımda yatan hastalardan izole edildiği görülmektedir. Yoğun bakım hastaları daha savunmasız ve vücut dirençlerinin daha düşük olması nedeniyle enfeksiyon bulaşı yönünden büyük risk altındadırlar (Martin ve ark. 2016)

Gram negatif bakterilerin tedavisinde genellikle sefalosporinler, penisilinler, aminoglikozidler, florokinolonlar ve karbapenem türü antibiyotikler kullanılır. Ancak β -laktamazlar, sefalosporinazlar ve karbapenemazlar gibi direnç mekanizmalarının yaygınlaşması nedeniyle antibiyotiklere karşı gelişen direnç yüzünden tedavide zorluklar yaşanmaktadır (Shaikh ve ark. 2015).

Bizim ülkemizde yapılan çalışmalarda Kuş ve ark. (2017) *K. pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç oranlarını; ampisiline %100, sefuroksim aksetile %69,1, seftriaksona %67,9, AMC'ye %62,3, seftazidime %60,4, SXT'ye %56,6, PTZ'ye %41,5, gentamisine %39,6, siprofloksasine %32,1, amikasin %18,9, ertapenem %7,5, meropenem %5,7 olarak bildirmiştir. Kuş ve ark. (2017)'nin bildirdiği antibiyotik direnç oranları ile bizim çalışmamızda çıkan sonuçlar birbirine benzer olup gentamisin, amikasin ertapenem ve meropenem direnç oranları diğer antibiyotiklere göre daha azdır.. Duran ve ark.(2020) 2016-2019 yılları arasında idrar kültüründen izole ettikleri *K. pneumoniae* suşlarının en çok direnç gösterdiği antibiyotiğin AMC (%64,7) olduğunu bildirmişlerdir. Onu sırasıyla siprofloksasin (%58,5), seftriakson (% 57,2) ve SXT (% 53,3)'nin takip ettiği görülmüştür. Meropenem ve imipenem %20,6 oranında direnç bildirmişlerdir.

Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda Mijović ve ark. (2020) Karadağ hastanelerinde 2016'dan 2018'e kadar izole edilen 78 *K. pneumoniae* suşunun %93,6 oranı ile en çok seftriaksona direnç gösterdiklerini bildirmişlerdir. Seftriaksondan sonra %90,8 ile seftazidime, %89,9 ile gentamisine, %87 ile AMC'ye yüksek direnç göstermişlerdir. Suşların karbapenem (meropenem/imipenem) direnç oranı %7,69 olmuştur.

Alcántar-Curiel ve ark. (2018) Şubat 1999'dan Ekim 2002'ye kadar 45 aylık bir süre içinde Hospital Civil de Guadalajara hastanesinde yatan hastalardan 168 *K. pneumoniae* suşunu izole etmiş ve incelenen antibiyotik duyarlılıklarında; %100 ampisiline, %97 sefuroksime, %81,5 gentamisine, %72 seftazidime, %68,5 seftriaksona, %67,2 amikasin direnç gösterdiği bildirilmiştir. Li ve ark. (2012) Çin'in Pekin bölgesinde bulunan üçüncü basamak hastanesinden izole edilen *K. pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç analizi çalışmasında en yüksek direnç oranı (%99,6) ampisilinde bildirilmiştir. Antibiyotik direnci yüksek çıkan diğer ilaçlar; SXT (%52,9), seftriakson (%49,3), seftazidim (%49,3) olmuştur. Ertapenem direnci %7,2, imipenem direnci %5,8 olarak bildirilmiştir. Diğer

antibiyotik gruplarına göre karbapenem grubu ilaçların direnç oranı daha düşük saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda *K. pneumoniae*'nin en çok direnç gösterdiği antibiyotikler sırasıyla; ampisilin (%100), sefuroksim (%71), sefuroksim aksetil (%69), AMC (%67), seftriakson (%67), seftazidim (%65), siprofloksasin (%53), PTZ (%50), SXT (%46), sefoksitin (%42), sefiksim (%38), ertapenem (%37), gentamisin (%24), meropenem (%22), amikasin (%22) olmuştur. Bizim çalışmamızdaki suşlar ile diğer çalışmalardaki suşların en çok direnç gösterdiği antibiyotikler benzerdi. *K. pneumoniae* ampisiline doğal olarak dirençlidir (EUCAST, 2022). Ampisilin direnci bu sebeple %100 bulunmuştur.

Enterobacteriaceae ailesi genel olarak birçok antibiyotik türüne dirençli hale gelmiştir ve karbapenem türü antibiyotiklerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Ancak karbapenamaz genlerinin de hızlı bir şekilde yayılması sonucu karbapenemlere karşı direnç artmıştır (Karaiskos ve Giamarellou 2014).

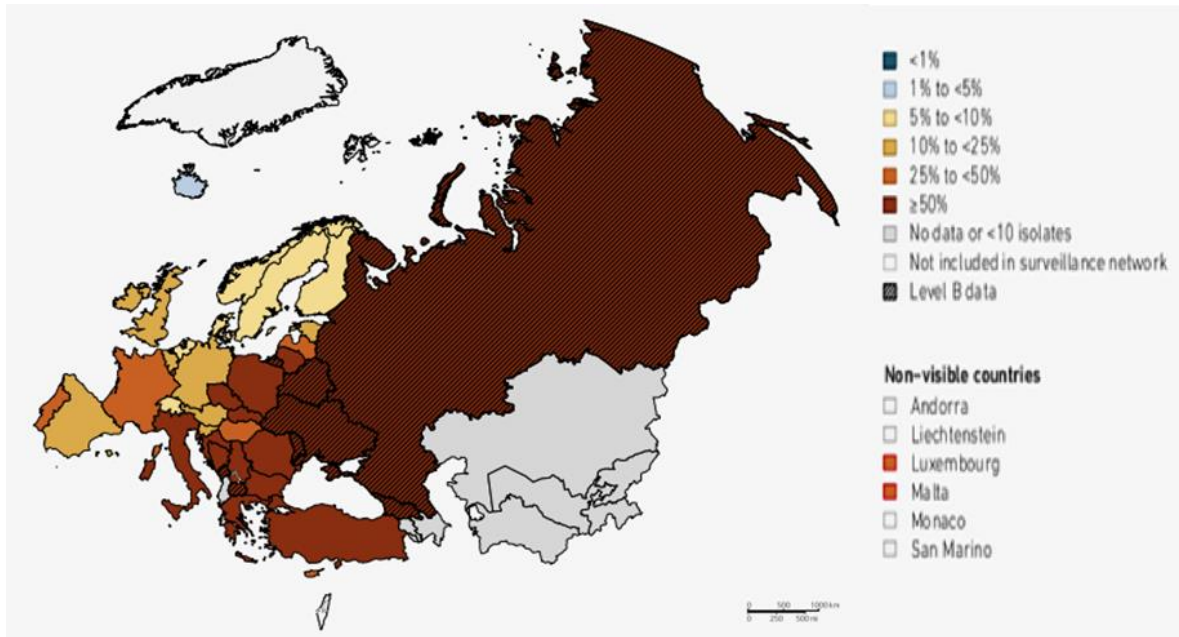
ABD'de Antibiyotik Direnç Tehditleri 2019 raporunda hastanede yatan hastalarda 2014'te 11400, 2015'de 11500, 2016'da 13100, 2017'de 13100 karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* üyesi bakteri izole edilen vaka ve bu vakaların tahminen 1100 kadarının bu enfeksiyon sebebiyle öldüğü bildirilmiştir (CDC 2019). 2014'ten 2017 yılına doğru vakalar incelendiğinde ESBL üreten *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerin etken olduğu vaka sayıları artmıştır.

Karbapeneme dirençli *K. pneumoniae*'nin gün geçtikçe artması karbapenem direnç genlerinin plazmid aracılı olmasından yakından ilgilidir (Gupta ve ark. 2011). ABD ve Çin'de yıllar içerisinde karbapenem dirençli suşların artışında önemli bir farklılık gözlemlenmiştir (Hu ve ark. 2020, Gupta ve ark. 2016). “Orta Asya ve Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans 2020 Raporu” verilerine göre ülkemizde karbapenem direnci %39 olarak bildirilmiştir (WHO 2020).

Orta Asya ve Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans 2020 raporuna göre; Türkiye'deki kan ve BOS'tan izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında %75 AMC, %73 sefotaksim/seftriakson, %70 seftazidim, %65 gentamisin/tobramisin, %60 PTZ, %39 imipenem/meropenem, %27 amikasin direnci tespit edilmiştir (WHO 2020). Bizim çalışmamızda; yoğun bakım ünitelerinden izole edilen 19 tane (%53,3) *K. pneumoniae* suşu ve diğer kliniklerden gönderilen klinik örneklerden izole edilen 46 tane (%65,7)

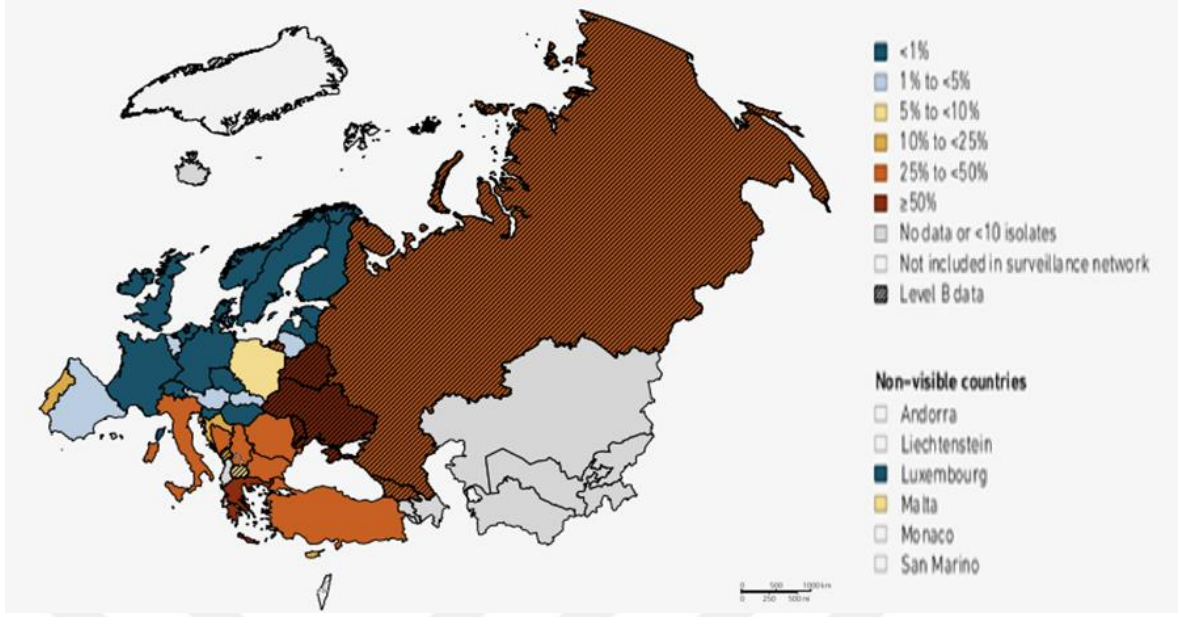
K. pneumoniae suşu olmak üzere toplamda 65 (%65) suş MDR olarak tespit edildi. Karbapenem duyarlı olanların 28'i (%44,4) ve karbapenem dirençli olanların 37'si (%100) MDR olarak tespit edildi.

Orta Asya ve Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans 2020 raporuna göre; Türkiye'deki *K. pneumoniae* suşlarındaki MDR oranı %40, 3. kuşak sefalosporine direnç oranı >%50 olarak bildirilmiştir (WHO 2020). Rapordaki diğer ülkelerdeki *K. pneumoniae* suşlarındaki 3. kuşak sefalosporinlere direnç oranı Şekil 5.1'de görülmektedir



Şekil 5.1. DSÖ Avrupa Bölgesindeki (EARS-Net ve CAESAR) ülkelerde üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli invaziv *K. pneumoniae* suşlarının yüzdesi (WHO 2020).

Türkiye'deki *K. pneumoniae* suşlarındaki karbapeneme direnç oranı %39 olarak bildirilmiştir (WHO 2020). Rapordaki diğer ülkelerdeki *K. pneumoniae* suşlarındaki karbapeneme direnç oranı Şekil 5.2'de görülmektedir.



Şekil 5.2. DSÖ Avrupa Bölgesindeki (EARS-Net ve CAESAR) ülkelerde karbapeneme dirençli invaziv *K. pneumoniae* suşlarının yüzdesi (WHO 2020).

Bizim ülkemizde olan çalışmalarda Gelmez ve ark. (2019) erişkin yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda *K. pneumoniae*'nin karbapenem direnci ve rol alan genlerin dağılımını araştırdıkları çalışmada 344 suşun 51'inde (%14,8) karbapenem direnci pozitif saptanmıştır. Samsatı ve ark. (2019) *K. pneumoniae* suşlarında karbapenemaz varlığının araştırıldığı çalışmada örneklerin %3,13'ü en az bir karbapeneme dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Telli'nin (2022) 2012-2020 yılları arasında topladığı *K. pneumoniae* suşlarının % 7,5'i karbapeneme dirençli olduğunu bildirmiştir.

Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda Hu ve ark.(2020) Çin'in Zhejiang eyaletinde 2008-2019 yılları arasında karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* prevalansını ve risk faktörlerini araştırdıkları geriye dönük bir gözlemsel çalışmada karbapenem direncinin %2,5'ten %15,8'e önemli bir artış yaşandığını bildirmişlerdir.

Indrajith ve ark. (2021) 89 MDR *K. pneumoniae* 'nin karbapenem ile olan ilişkisini araştırdıkları çalışmada imipenem %38, meropenem %31 ve ertapenem %52 direnç ile yüksek direnç oranları bildirmişlerdir. Shao ve ark. (2021) alt solunum hastalıkları meydana gelen yaşlı hastalarda karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarının incelemesini yaptıkları çalışmada 258 suşun 31'i (%12,02) karbapenem dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda izole ettiğimiz 100 *K. pneumoniae* suşunun 37'si (%37) karbapenem dirençli olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Suşların meropeneme %22 ertapeneme %37 oranında dirençli olduğu belirlenmiştir.

MDR *K. pneumoniae*, antibiyotik tedavisinde sınırlı sayıda ilaca duyarlı olan, hastanede yatış süresinin uzamasına neden olan ve sağlık bakımı maliyetleri üzerinde önemli etkisi olan *K. pneumoniae*'nin daha tehlikeli bir formudur (Ma ve Wang 2013). Antibiyotiklerin yanlış kullanımı ve çok fazla ampirik kullanımı MDR *K. pneumoniae*'nin görülme sıklığını artırmıştır (Ma ve Wang 2013).

Bizim ülkemize ait bir çalışma olan ve Dursun ve ark. (2018) 2013-2017 yılları arasında yürüttüğü; “Çocuk Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastalardan İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları” isimli çalışmalarında *K. pneumoniae*'nin MDR durumunu %60 olarak bildirmişlerdir.

Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda Khairy ve ark. (2020) çalışmalarında MDR *K. pneumoniae* üzerinde yaptıkları analiz sonucu 250 suştan 42'sinin (%16,8) MDR olduğunu bildirmişlerdir. Farhadi ve ark. (2021) İran'ın kuzeyinde bulunan hastanelerden topladıkları 100 *K. pneumoniae* suşun %58'ini MDR olarak bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda MDR oranı %65 olarak bulunmuştur. Yoğun bakım ve diğer klinikler açısından baktığımızda yoğun bakım ünitelerinden izole edilen suşların %63,3'ü diğer kliniklerden izole edilen suşların %65,7'si MDR olduğu belirlenerek kliniklerde MDR oranının daha yüksek olduğu saptandı. Kliniklere göre MDR durumunda istatistiksel bir anlam bulunmadı ($P=0,0819$). Ayrıca karbapenem dirençli suşlarının hepsi MDR fenotipindeydi.

Biyofilm oluşumu, bakteriyi ultraviyole radyasyonuna, aşırı sıcaklık, aşırı pH, yüksek tuzluluk, yüksek basınç, zayıf besinler gibi olumsuz çevre şartlarına ve maruz kaldığı antibiyotiğe karşı korur (Flemming ve ark. 2016, Özer ve Erdem Uysal 2021). *K. pneumoniae*'nin biyofilm oluşturması maruz kaldığı antibiyotik ve diğer olumsuz tehditler karşısında konağın savunmasına önemli faydalar sağladığı ve bunlar karşısında daha dirençli olmasına yardımcı olduğu görülür (Flemming ve ark. 2016, Özer ve Erdem Uysal 2021). Biyofilm oluşturan mikroorganizmalar incelendiğinde, biyofilm yüzeyine

yakın üreyen bakterilerin daha derinlerde üreyen bakterilere göre daha çabuk büyüdüğü ve maruz kaldığı ajanlara karşı daha dirençli olduğu görülmüştür (Jia ve Guo 2021).

Biyofilm üretimi ile ilgili çalışmalara örnek olarak ülkemizde; Manyaslı (2022) tarafından yürütülen çalışmada bir üniversite hastanesinde Ocak 2019-Aralık 2020 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gelen kan örneklerinden izole edilen 30 adet kolistin dirençli *K. pneumoniae* suşu çalışmaya dahil edilerek suşların biyofilm oluşturma mikroyekt yöntemi ile incelenmiştir. Suşların; 15'inin (%50) biyofilm üretmediği, 8'inin (%26,7) orta derecede biyofilm üreticisi ve 7'sinin (%23,3) güçlü biyofilm ürettiği bildirilmiştir. Kuş ve ark. (2017) hastane enfeksiyonu etkeni *K. pneumoniae* suşlarında çeşitli virülans faktörlerini araştırdıkları çalışmalarında 53 *K. pneumoniae* suşunun 43'ünün (%81,9) biyofilm ürettiği, 10'nun (%18,1) biyofilm üretmediği bildirmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada farklı klinik örneklerden izole edilen 100 *K. pneumoniae* suşunun 1'inin (%1) güçlü, 30'unun (%30) orta, 45'inin (%45) zayıf biyofilm ürettiği, 24'ünün (%24) ise biyofilm üretmediği belirlenmiştir. Suşların izole edildiği klinik örnek ve biyofilm arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Kandan izole edilenlerin 11'inin (%100) orta ve zayıf olacak şekilde biyofilm ürettiği saptanmıştır. İdrardan izole edilen 62 suşun 44'ünde (%71) biyofilm üretimi görülürken 18'inde (%29) biyofilm üretimi saptanamamıştır. Yara kültüründen izole edilen 12 suşun 11'inde (%91,7) biyofilm üretimi olmuştur. Kan ve yara kültüründen izole edilen suşların biyofilm oluşturma yeteneğinin daha fazla olduğu tespit edildi. Çalışmamızda 63 karbapenem duyarlı ve 37 karbapenem dirençli suşun biyofilm oluşumu ile ilişkisini incelediğimizde: karbapenem duyarlı suşlarda güçlü biyofilm üretimi görülmezken, 9'unun (%14,3) orta, 30'unun (%47,6) zayıf biyofilm ürettiği 24'ünün (%38,1) ise biyofilm üretmediği belirlenmiştir. Karbapenem dirençli olan 37 suşun, 1'inde (%2,7) güçlü, 21'inde (%56,8) orta, 15'inde (%40,5) zayıf biyofilm üretimi görülmüştür.

Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda Rahdar ve ark. (2019) askeri hastanelerden Nisan 2018-Mart 2019 tarihleri arasında topladıkları 160 *K. pneumoniae* suşunun karbapenem dirençleri ve biyofilm üretmeleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Toplamda 92 karbapenem duyarlı suşun %33,6'sının güçlü, %50'sinin orta ve %16,3'ünün zayıf biyofilm ürettiğini karbapenem dirençli 68 suşun ise %77,9'unun güçlü ve %22'sinin orta düzeyde biyofilm ürettiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda karbapenem duyarlı suşların %61,9'unda biyofilm üretimi görülürken, karbapenem dirençli suşların (%100) tümünde biyofilm üretimi görülmüştür. Çalışmamızda Rahdar ve ark. (2019) çalışmasında

olduğu gibi karbapenem direnci ve biyofilm üretimi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0,001$). Domenico ve ark. (2020) onkoloji hastalarından izole edilen 86 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşunun 48'ini (%55,8) güçlü biyofilm üreticisi, 38'ini (%44,2) zayıf biyofilm üreticisi olarak bildirmişlerdir.

Haghighifar ve ark. (2021) izole ettikleri 128 *K. pneumoniae* suşunun 57'sini MDR olarak belirlemiştir ve bu MDR suşlarının 37'sinin (%65) zayıf, 12'sinin (%21) orta, 8'inin (%14) güçlü biyofilm oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda MDR olarak tanımladığımız 65 suşun; 54'ünde (%83) biyofilm oluşumu görülürken, 11 tanesinde (%17) biyofilm üretimi görülmemiştir ($P=0,024$).

K. pneumoniae sahip olduğu kapsül, LPS, sideroforlar ve pili gibi virülans faktörleri bakteriyel patojeniteyi artırarak daha çok hastalık yapabilme ve çevresel etkilere karşı daha dirençli olmayı artırır (Piperaki ve ark. 2017).

Virülans faktörlerine ait genlerin aynı zamanda biyofilmin oluşumunda yer aldığı görülmüştür. Tip 3 fimbriaya ait Mrk genleri (Alcantar-Curiel ve ark. 2013), LPS oluşumunda görev alan altı genli wb kümesine ait enzimleri kodlayan wbbM ve wzm genleri (Boddicker ve ark. 2006, Balestrino ve ark. 2008) biyofilmin oluşumunda yer alan bazı virülans faktörlerine ait genlerdir. Biyofilm oluşumunda düzenleyici ve otoindükleyici görevi üstlenen luxS geni biyofilm oluşumunda görev alan bir diğer gendir (Balestrino ve ark. 2005, Chen ve ark. 2014).

Çalışmamızda biyofilm üretiminde rol aldığı düşünülen virülans faktörlerine ait mrkA, wbbM, wzm, luxS genlerinin varlığı araştırılarak biyofilm üretime olan katkısı incelenmiştir. PZR yöntemiyle 100 *K. pneumoniae* suşlarında en fazla saptanan gen %73 ile mrkA olmuştur. mrkA yı sırasıyla %68 ile wzm, %57 ile wbbM ve %52 ile luxS geni takip etmiştir. mrkA geninin pozitif olduğu 73 *K. pneumoniae* suşunun 57'si (78,1) (güçlü, orta veya zayıf) biyofilm yaparken, 16'sında (%21,9) biyofilm üretimi saptanmamıştır. wbbM geninin pozitif olduğu 57 *K. pneumoniae* suşunun 43'ü (%75,4) biyofilm yaparken, 14'ünde (%24,6) biyofilm üretimi olmamıştır. wzm geninin pozitif olduğu 32 *K. pneumoniae* suşunun 25'i (%78,1) biyofilm yaparken, 7'sinde (%21,9) biyofilm üretimi olmamıştır. luxS genini pozitif olduğu 52 *K. pneumoniae* suşunun 39'u (%75) biyofilm yaparken, 13'ünde (%25) biyofilm üretimi olmamıştır. Genlerin tespit edildiği suşlarda

biyofilm üretimi yüksek oranda saptanmakla birlikte genleri içermeyen suşlarda da biyofilm üretim oranı yüksek olduğu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Mirzaie ve Ranjbar (2021) Tahran'da Ocak 2018 ile Temmuz 2019 tarihleri arasında çalışmalarına dahil ettikleri 100 *K. pneumoniae* suşunun %92'sini MDR fenotipinde ve %48'sini imipeneme dirençli olarak bildirmişlerdir. Yaptıkları biyofilm testine göre suşların %77'sinin biyofilm ürettiğini, %23'ünün ise biyofilm üretmediğini tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda suşların %76'sının biyofilm üretirken, %24'ünün biyofilm üretmediği belirlenmiştir. Çalışmalarda biyofilm oluşturan suşların oranları benzer durumdadır. Mirzaie ve Ranjbar (2021) biyofilm üreticilerinin %89'unun MDR fenotipinde olduğunu ve *K. pneumoniae* suşlarının MDR fenotipi ve biyofilm oluşumu arasında anlamlı bir fark olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda suşların %65'inin MDR fenotipinde olduğu ve MDR suşların %83'ünün biyofilm ürettiği tespit edilmiştir. Biyofilm üreten suşlardaki MDR oranının fazla olduğu belirlenmiştir (p=0,024)

Mirzaie ve Ranjbar (2021) biyofilm oluşumuna katılan tip 1 ve tip 3 fimbrial yapışmayı kodlayan mrkA geninin tüm suşlar içinde bulunma oranını %88 bulurken bizim çalışmamızda mrkA geni suşların %73'ünde pozitif bulunmuştur. Onların yaptığı çalışmada biyofilm üretiminin olduğu bütün suşlarda mrkA geninin bulunduğu bildirilirken bizim çalışmamızda ise biyofilm oluşturan 76 suşun 57'sinde (%78) mrkA geninin bulunduğu tespit edilmiştir. Her iki çalışmada da suşlarda mrkA geninin bulunma oranı yüksektir ancak Mirzaie ve Ranjbar'ın (2021) çalışmasında mrkA'nın daha fazla tespit edilmesinin sebebi izole ettikleri suşların büyük çoğunluğunun MDR fenotipinde olması ile ilgisi olabilir.

mrkA, Tip 3 fimbrial adezyonunda *K. pneumoniae*'nin idrar yolunun epitel ve endotel hücrelerine yapışmasına yardımcı olan bir gendir. mrkA geninin biyofilm oluşumunda kesin rolü bilinmemekle birlikte biyofilm oluşumunda yardımcı olduğu görülmüştür (Khalil ve ark. 2019)

Vuotto ve ark. (2017) Ocak 2012 ve Nisan 2014 tarihleri arasında idrar örneklerinden izole ettikleri 120 *K. pneumoniae* suşunun 40'ını (%33,3) MDR olarak bildirmişlerdir. MDR suşlarının %67,5'inin (27/40) güçlü biyofilm ürettiğini, %25'inin (10/40) orta düzeyde biyofilm ürettiğini ve %7,5'inin (3/40) zayıf biyofilm ürettiğini bildirmişlerdir. Çalışmaları sonucunda MDR suşlarının biyofilm oluşturmak ve

yapıştırmak için mrkA geninden yararlandığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda mrkA geninin bulunduğu suşların %78'inin biyofilm ürettiği tespit edilmiştir. Ayrıca 65 MDR olarak belirlediğimiz suşların %76,9'unda mrkA geni en fazla bulunurken bunu %58,5 ile wbbM, %52,3 ile luxS, %29,2 ile wzm geni takip etmiştir. Karbapenem dirençli olan 37 suşun %70,2'sinde mrkA, %54'ünde wbbM, %51,3'ünde luxS ve %21,6'sında wzm geni tespit edilmiştir. Çalışmamızda MDR olan suşlarda biyofilm üretiminin fazla olması ve mrkA'nın çok fazla oranda tespit edilmesi Vuotto ve ark. (2017)'nin mrkA geninin biyofilm üretimini artırdığı tespitini destekleyebilir ancak çalışmamızda mrkA geninin bulunmadığı suşlarda da biyofilm üretiminin yüksek oranda saptanması mrkA geni ve MDR arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını ortaya koymuştur ($p>0,05$). Aynı durum diğer genler için de belirlenmiştir. Genlerin suşlarda bulunup bulunmaması biyofilm üretimini etkilediğine dair istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir.

Vuotto ve ark. (2017) çalışmalarında incelemesini yaptıkları wbbM, wzm ve luxS genlerinin MDR suşlarından daha çok, geniş ilaca dirençli (XDR) fenotipindeki suşlarda biyofilm üretimine yararı olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda karbapeneme dirençli suşlarda mrkA %70,3, wbbM %54, wzm %21,6, luxS %51,3 oranında saptanırken karbapeneme duyarlı suşlarda mrkA %74,6, wbbM %58,7, wzm %38, luxS %52,4 oranında saptanmıştır. Çalışmamızda varlığı araştırılan genlerin karbapenem duyarlılığı ile bir ilişkisi olmadığı istatistiksel olarak tespit edilmiştir ($p>0,005$).

6. SONUÇ

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli ve karbapenem duyarlı *K. pneumoniae* suşlarındaki biyofilm üretiminin karşılaştırılması ve biyofilm üretiminde görev aldığı düşünülen virülans faktörlerine ait genlerin varlığını araştırarak karbapenem direnci ile bir ilişkisi olup olmadığının tespit edilmesi amaçlandı

Çalışmaya dahil edilen 37 adet karbapenem dirençli ve aynı dönemde izole edilen 63 adet karbapenem duyarlı toplam 100 *K. pneumoniae* suşunun antibiyotik duyarlılıkları Vitek 2 otomatize sistem (bioMérieux, Fransa) ile belirlendi. Genlerin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle araştırıldı. Biyofilm üretimi spektrofotometrik (Thermo Fisher Scientific Oy, Finlandiya) mikrolept yöntemi kullanılarak tespit edildi.

Çalışmamızda suşların en çok izole edildiği klinik örnek idrar (%62) olurken trekeal aspirat (%13), yara (%12), kan (11) ve balgam (%2) suşların izole edildiği diğer klinik örneklerdi. Kan kültüründen izole edilen suşlarda karbapenem direnç oranı daha fazla bulunurken idrar ve trekeal aspirattan izole edilen suşlarda ise karbapenem duyarlılığı daha fazla bulundu ($p=0,003$).

Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında karbapenem direnç oranı diğer kliniklerden daha fazla, karbapenem duyarlılık oranı ise diğer kliniklerden daha az olmasına rağmen istatistiksel olarak farklılık bulunmadı ($p=0,070$).

Karbapenem duyarlı olan suşların en fazla dirençli olduğu antibiyotikler ampisilin, sefuroksim, sefuroksim aksetil, AMC ve seftriaksondu. Karbapeneme dirençli olan suşların hepsi ampisilin, AMC, sefuroksim ve PTZ'ye dirençliydi. Bu grubun en fazla dirençli olduğu diğer antibiyotikler; seftazidim (%97,3), sefoksitin (%97,3), sefuroksim aksetil (%97,3) ve siprofloksasin olarak tespit edildi.

Karbapeneme dirençli suşların tamamında biyofilm üretimi saptanırken karbapeneme duyarlı suşların %38,1'inde biyofilm üretimi saptanmadı ($p<0,001$).

K. pneumoniae suşlarının izole edildiği klinik örnekler ve suşlardaki biyofilm üretimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p=0,103$).

Suşların %73'ünde mrkA, %68'inde wzm, %57'sinde wbbM ve %52'sinde luxS geninin bulunduğu saptandı.

Genleri bulunduran suşların daha fazla oranda biyofilm ürettiği tespit edilmek ile birlikte, genleri içermeyen suşlarda da biyofilm üretim oranı fazla olduğu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Gen varlığının karbapenem duyarlılığını etkilemediği tespit edildi.

Karbapeneme dirençli olan suşlardaki MDR oranının, karbapeneme duyarlı olan suşlardaki MDR oranından daha fazla olduğu saptandı ($p<0,001$).

Biyofilm üretimi olan suşlardaki MDR oranının daha fazla olduğu tespit edildi ($p=0,024$).

Biyofilm üreten suşlarda PTZ ($p=0,006$), seftazidim ($p=0,009$), sefoksitin ($p=0,001$), seftriakson ($p=0,042$), meropenem ($p=0,002$), ertapenem ($p<0,01$), amikasin ($p=0,02$), direncinin daha fazla olduğu saptandı. Bu antibiyotiklerin MİK değerleri biyofilm üreten suşlarda daha fazla bulundu ($p<0,05$).

Karbapeneme dirençli olan grupta suşların hepsinin biyofilm üretmesi, hepsinin MDR olması ve diğer antibiyotiklere de daha dirençli olması sebebiyle biyofilm üretiminin antibiyotik direncinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Biyofilm üretiminde rol oynadığı düşünülen ve çalışmamızda araştırılan genler ile biyofilm üretimi arasında ilişki bulunamamıştır bunun sebebi de genleri içermeyen suşlarda da biyofilm üretiminin fazla olmasıdır.

KAYNAKLAR

1. **Aires-de-Sousa M.**, Ortiz de la Rosa JM., Gonçalves ML., Pereira AL., Nordmann P. ve ark. Epidemiology of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in a Hospital, Portugal. *Emerg Infect Dis.* **2019**, 25(9): 1632–1638.
2. **Alcántar-Curiel MD.**, Blackburn D., Saldaña Z., Gayosso-Vázquez C. , Lovine NM. ve ark. Multi-functional analysis of *Klebsiella pneumoniae* fimbrial types in adherence and biofilm formation. *Virulence*, **2013**, 4(2):129-38.
3. **Alcántar-Curiel MD.**, Ledezma-Escalante CA., Jarillo-Quijada MD., Gayosso-Vázquez C., Morfin-Otero R. ve ark. Association of Antibiotic Resistance, Cell Adherence, and Biofilm Production with the Endemicity of Nosocomial *Klebsiella pneumoniae*. *Biomed Res Int.* **2018**, 7012958.
4. **Altınkanat Gelmez G.**, Hasdemir U. ve Söyletir G. Development of Colonization/Infection with Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* and Distribution of Carbapenemase Types in Adult Intensive Care Units. *ANKEM Derg.* **2019**, 33(3):108-113.
5. **Andrade BGN.**, de Veiga Ramos N., Marin MFA. Fonseca EL. ve Vicente ACP. The genome of a clinical *Klebsiella variicola* strain reveals virulence-associated traits and a pl9-like plasmid. *FEMS Microbiol Lett.* **2014**, 360(1):13-6.
6. **Arakawa Y.** Systematic research to overcome newly emerged multidrug-resistant bacteria. *Microbiol Immunol.* **2020**, 64(4):231-251.
7. **Bachman MA.**, Lenio S., Schmidt L., Oyler JE. ve Weiser JN. Interaction of Lipocalin 2, Transferrin, and Siderophores Determines the Replicative Niche of *Klebsiella pneumoniae* during Pneumonia. *mBio.* **2012**, 3(6): e00224-11.
8. **Bachman MA.**, Oyler JE., Burns SH., Caza M., Lépine F. ve ark. *Klebsiella pneumoniae* yersiniabactin promotes respiratory tract infection through evasion of lipocalin 2. *Infection and immunity*, **2011**, 79 (8): 3309.
9. **Balestrino D.**, Haagensen JA ., Rich C. ve Forestier C. Characterization of type 2 quorum sensing in *Klebsiella pneumoniae* and relationship with biofilm formation. *J Bacteriol.* **2005**, 187(8):2870-80.
10. **Balestrino D.**, Ghigo J.M., Charbonnel N., Haagensen J.A. ve Forestier C. The characterization of functions involved in the establishment and maturation of *Klebsiella pneumoniae* in vitro biofilm reveals dual roles for surface exopolysaccharides. *Environ Microbiol.* **2008**, 10(3):685-701.
11. **Ballén V.**, Gabasa Y., Ratia C., Ortega R., Tejero M. ve ark. Antibiotic Resistance and Virulence Profiles of *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated From Different Clinical Sources. *Front Cell Infect Microbiol.* **2021**, 11: 738223.
12. **Bandeira M.**, Almeida Carvalho P., Duarte A. ve Jordao L. Exploring Dangerous Connections between *Klebsiella pneumoniae* Biofilms and Healthcare-Associated Infections. *Pathogens.* **2014**, 3(3): 720–731.
13. **Barguigua A.**, El Otmani F., Talmi M., Bourjilat F., Haouzane F. ve ark. Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from the community in Morocco. *Journal of Medical Microbiology*, **2011**, 60 (9): 1344-1352.
14. **Bennett JE.**, Dolin R. ve Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9th ed. *Elsevier.* **2019**, p. 2669–85.
15. **Boddicker JD.**, Anderson RA., Jagnow J. ve Clegg S. Signature-tagged mutagenesis of *Klebsiella pneumoniae* to identify genes that influence biofilm formation on extracellular matrix material. *Infect Immun.* **2006**, 74(8):4590-7.
16. **Brisse S.**, Passet V. ve Grimont PA. Description of *Klebsiella quasipneumoniae* sp. nov., isolated from human infections, with two subspecies, *Klebsiella quasipneumoniae* subsp. *quasipneumoniae* subsp. nov. and *Klebsiella quasipneumoniae* subsp. *similipneumoniae* subsp. nov., and demonstration that *Klebsiella singaporensis* is a junior heterotypic synonym of *Klebsiella variicola*. *Int J Syst Evol Microbiol.* **2014**, 64(Pt 9):3146-3152.
17. **Broberg CA.**, Palacios M. ve Miller VL. *Klebsiella*: a long way to go towards understanding this enigmatic jet-setter. *F1000Prime Rep.* **2014**, 6: 64.
18. **Cai Y.**, Venkatachalam I., Tee NW., Tan TY., Kurup A. ve ark. Prevalence of Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use Among Adult Inpatients in Singapore Acute-Care Hospitals: Results From the First National Point Prevalence Survey. *Clin Infect Di.*, **2017**, n64(suppl_2):S61-S67.
19. **Carrër A.**, Poirel L., Yilmaz M., Akan OA., Cilli F. ve ark. Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **2010**, 54(3):1369-73.

20. **Castanheira M.**, Deshpande LM., Mathai D., Bell JM., Jones RN. ve ark. Early dissemination of NDM-1- and OXA-181-producing Enterobacteriaceae in Indian hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006-2007. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2011, 55 (3): 1274-8.
21. **Centres for Disease Control and Prevention (US)**. Antibiotic resistance threats in the United States, 2019. Centres for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services.
22. **Chen KM .**, Chiang MK ., Wang M., Ho HC ., Lu MC . ve ark. The role of pgaC in Klebsiella pneumoniae virulence and biofilm formation. *Microbial Pathogenesis*, **2014**, 77: 89 – 99.
23. **Choby JE.**, Howard-Anderson J ., Weiss DS. Hypervirulent Klebsiella pneumoniae – clinical and molecular perspectives. *J Intern Med*. **2020**, 287(3): 283–300.
24. **Chong Y.**, Yakushiji H. ve Kamimura T. Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in a long-term study from Japan. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, **2011**, 30 (1): 83-7.
25. **Chung YP**. The emerging problems of Klebsiella pneumoniae infections: carbapenem resistance and biofilm formation. *FEMS Microbiology Letters*, **2016**, 363(20).
26. **Clegg S**. ve Murphy CN. Epidemiology and Virulence of Klebsiella pneumoniae. *Microbiol Spectr*, **2016**, 4(1).
27. **Conlan S.**, Kong HH. ve Segre JA. Species-Level Analysis of DNA Sequence Data from the NIH Human Microbiome Project. *PLoS One*. **2012**, 7(10): e47075.
28. **Daikos GL.**, Markogiannakis A., Souli M. ve Tzouvelekis LS. Bloodstream infections caused by carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae: a clinical perspective. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2012, 10(12):1393-404.
29. **De Majumdar S.**, Yu J., Fookes M., McAteer SP., Llobet E. ve ark. Elucidation of the RamA regulon in Klebsiella pneumoniae reveals a role in LPS regulation. *PLoS pathogens*, **2015**, 11(1) :e1004627.
30. **Di Domenico EG.**, Cavallo I., Sivori F., Marchesi F., Prignano G. ve ark. Biofilm Production by Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae Significantly Increases the Risk of Death in Oncological Patients. *Front Cell Infect Microbiol*. **2020**, 10: 561741.
31. **Doi Y.** ve Paterson DL. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Semin Respir Crit Care Med*. 2015, 36(1):74-84.
32. **Dong N.**, Yang X., Chan EW., Zhang R. ve Chen S. Klebsiella species: Taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance. *EBioMedicine*. **2022**, 79: 103998.
33. **Dufour D.**, Leung V., Lévesque CM. Bacterial biofilm: Structure, function, and antimicrobial resistance. *Endodontic Topics*, 2012, 22:2–16.
34. **Duran H.**, Çeken N. ve Kula Atik T. Antibiotic Resistance Rates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Strains Isolated from Urine Culture: A Four-Year Analysis. *ANKEM Dergisi*, **2020**, 34(2):41-7.
35. **Dursun A.**, Özsoylu S., Kılıç H., Kılıç AU. ve Akyıldız BN. Çocuk Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastalardan İzole Edilen Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae ve Acinetobacter baumannii Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *J Turk Soc Intens Care*, **2018**, 16(3):109-114.
36. **EUCAST**. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Clinical Breakpoint Tables Version v. 12.0, **2022**, 15-16
37. **Falagas ME.**, Lourida P., Poulidakos P., Rafailidis PI. ve Tansarli GS. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: systematic evaluation of the available evidence. *Antimicrob Agents Chemother*, **2014**, 58(2):654-63.
38. **Farhadi M.**, Ahanjan M., Goli HR., Haghshenas MR. ve Gholami M. High frequency of multidrug-resistant (MDR) Klebsiella pneumoniae harboring several β -lactamase and integron genes collected from several hospitals in the north of Iran. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. **2021**, 20: 70.
39. **Farida H.**, Severin JA, Gasem MH, Keuter M., van den Broek P. ve ark. Nasopharyngeal Carriage of Klebsiella pneumoniae and Other Gram-Negative Bacilli in Pneumonia-Prone Age Groups in Semarang, Indonesia. *J Clin Microbiol*. **2013**, 51(5): 1614–1616.
40. **Flemming HC.** ve Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8(9):623-33.
41. **Flemming HC.**, Wingender J., Szewzyk U., Steinberg P., Rice SA. ve ark. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(9):563-75.
42. **Forsythe SJ**, Pitout J, Charnot-Katsikas A, Alby K, Frank KM. *Klebsiella* and selected *Enterobacterales*. In: Carroll KC, Pfaller MA, Landry ML, et al. eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 12th ed. Washington, DC: ASM Press; 2019:724–50.
43. **Friedlaender C**. Ueber die Schizomyceten bei der acuten fibrösen Pneumonie. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin* volume, **1882**, 87: 319–324.

44. **Garza-Ramos U.**, Silva-Sánchez J., Martínez-Romero E., Tinoco P., Pina-Gonzales M. ve ark. Development of a Multiplex-PCR probe system for the proper identification of *Klebsiella variicola*. *BMC Microbiol.* **2015**, 15: 64.
45. **Gholipour A.**, Soleimani N., Shokri D., Mobasherizadeh S., Kardi M. ve ark. Phenotypic and Molecular Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamase Produced by *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* Isolates in an Educational Hospital. *Jundishapur J Microbiol.* **2014**, 7(10): e11758.
46. **Golan Y.** Empiric therapy for hospital-acquired, Gram-negative complicated intra-abdominal infection and complicated urinary tract infections: a systematic literature review of current and emerging treatment options. *BMC Infect Dis.* **2015**, 15: 313.
47. **Guilbaud M.**, Bruzaud J., Bouffartigues E., Orange N., Guillot A. ve ark. Proteomic Response of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Adhering to Solid Surfaces. *Front Microbiol*, 2017, 3;8:1465.
48. **Gupta N.**, Limbago BM., Patel JB. ve Kallen AJ. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. *Clinical infectious diseases*, 2011, 53 (1): 60-7.
49. **Gür D.** Enterik Gram Negatif Çomaklar (Enterobacteriaceae) Yenen S. O., editör. Tıbbi Mikrobiyoloji, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti.. İstanbul; **2014**, s; 229-235
50. **Haghighifar E.**, Norouzi F. ve Kamali Dolatabadi R. Molecular detection of Extended-Spectrum β -lactamases (ESBLs) and biofilm formation in uropathogen *Klebsiella pneumoniae* in Iran. *Med J Islam Repub Iran.* **2021**, 35: 72.
51. **Hart CA.** *Klebsiellae* and neonates. *The Journal of hospital infection*, **1993**, 23 (2): 83-6.
52. Hathroubi S., Mekni MA., Domenico P., Nguyen D. ve Jacques M. Biofilms: Microbial Shelters Against Antibiotics. *Microb Drug Resist*, 2017, 23(2):147-156.
53. **Herridge WP.**, Shibu P., O'Shea J., Brook TC. ve Hoyles L. Bacteriophages of *Klebsiella* spp., their diversity and potential therapeutic uses. *Journal of medical microbiology*, **2020**, 69(2):176-194.
54. **Holden VI.** ve Bachman MA. Diverging roles of bacterial siderophores during infection. *Metallomics.* **2015** Jun;7(6):986-95.
55. **Holden VI.**, Wright MS., Houle S., Collingwood A., Dozois CM. ve ark. Iron Acquisition and Siderophore Release by Carbapenem-Resistant Sequence Type 258 *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere.* **2018**, 3(2): e00125-18.
56. **Holt KE.**, Wertheim H., Zadoks RN., Baker S., Whitehouse CA. Ve ark. Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proceedings of the National Acedemy of Sciences of he United States of America*, **2015**, 112 (27): E3574-E3581.
57. **Hu FP.**, Guo Y., Zhu DM., Wang F., Jiang F. ve ark. Resistance trends among clinical isolates in China reported from CHINET surveillance of bacterial resistance, 2005-2014. *Clin Microbiol Infect.* **2016**, 1:S9-14.
58. **Hu Y.**, Liu C., Shen Z., Zhou H., Cao J. ve ark. Prevalence, risk factors and molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in patients from Zhejiang, China, 2008–2018. *Emerg Microbes Infect.* **2020**; 9(1): 1771–1779.
59. **Indrajith S.**, Mukhopadhyay AK., Chowdhury G., Al Farraj DA., Alkufeidy RM. ve ark. Molecular insights of Carbapenem resistance *Klebsiella pneumoniae* isolates with focus on multidrug resistance from clinical samples. *Journal of Infection and Public Health*, **2021**, s131-138.
60. **Jayol A.**, Poirel L., Dortet L. ve Nordmann P. National survey of colistin resistance among carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and outbreak caused by colistin-resistant OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae*, France, 2014. *Euro Surveill*, **2016**, 21(37):30339.
61. **Jia W** ve Guo RL. [Research Advance on the Factors Influencing *Klebsiella Pneumoniae* Biofilm Formation and the Regulation Mechanisms]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, **2021**, 30;43(6):936-944.
62. **Kahraman EP.**, Karakeçe E., Erdoğan F., Uluyurt H., Koroğlu M. ve ark. *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının antibiyotiklere direnç durumlarının değerlendirilmesi. *Ortadoğu Tıp Dergisi*, **2017**, 9(1): 12 – 18.
63. **Karaiskos I.** ve Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother*, **2014**, 15(10):1351-70.
64. **Khairy RMM.**, Mahmoud MS., Shady RR. ve Esmail MAM. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital-acquired infections: Concomitant analysis of antimicrobial resistant strains. *Int J Clin Pract.* **2020**, 74(4):e13463.

65. **Khalil MAF.**, Hager R., Abd-El Reheem F., Mahmoud EE., Samir T. ve ark. A Study of the Virulence Traits of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates in a *Galleria mellonella* Model. *Microb Drug Resist.* **2019**, 25(7):1063-1071.
66. **Khater F.**, Balestrino D., Charbonnel N., Dufayard JF., Brisse S. ve ark. In Silico Analysis of Usher Encoding Genes in *Klebsiella pneumoniae* and Characterization of Their Role in Adhesion and Colonization. *PLoS One.* **2015**, 10(3): e0116215.
67. **Kim J.**, Jo A., Chukeatirote E. ve Ahn J. Assessment of antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae* exposed to sequential in vitro antibiotic treatments. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, **2016**, 15(1):60.
68. **Kobayashi SD.**, Porter AR., Freedman B., Pandey R., Chen L. Antibody-mediated killing of carbapenem-resistant ST258 *Klebsiella pneumoniae* by human neutrophils. *mBio.* **2018**, 9(2) e00297-18.
69. **Koh EI.** ve Henderson JP. Microbial Copper-binding Siderophores at the Host-Pathogen Interface*. *J Biol Chem.* **2015**, 290(31): 18967–18974.
70. **Krause KM.**, Serio AW., Kane TR. ve Connolly LE. Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med.* **2016**, 6(6): a027029.
71. **Kumar V.**, Sun P., Vamathevan J., Li Y., Ingraham K. ve ark. Comparative Genomics of *Klebsiella pneumoniae* Strains with Different Antibiotic Resistance Profiles. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2011, 55 (9): 4267–4276.
72. **Kuş H.**, Arslan U., Türk Dağı H. ve Fındık D. Investigation of various virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from nosocomial infections. *Mikrobiyol Bul.* **2017**, 51(4):329-339.
73. **Lam MM.**, Wick RR., Watts SC., Cerdeira LT., Wyres KL. ve ark. A genomic surveillance framework and genotyping tool for *Klebsiella pneumoniae* and its related species complex. *Nat Commun.* **2021**, 12: 4188.
74. **Lam MM.**, Wick RR., Wyres KL., Gorrie CL., Judd LM ve ark. Genetic diversity, mobilisation and spread of the yersiniabactin-encoding mobile element ICEKp in *Klebsiella pneumoniae* populations. *Microb Genom.* **2018**, 4(9): e000196.
75. **Larrie-Bagha SM.**, Rasooli I., Mousavi-Gargari SL., Rasooli Z. ve Nazarian S. Passive immunization by recombinant ferric enterobactin protein (FepA) from *Escherichia coli* O157. *Iran J Microbiol.* **2013**, 5(2): 113–119.
76. **Latifpour M.**, Gholipour A. ve Damavandi MS. Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Nosocomial and Community-Acquired Urinary Tract Infections. *Jundishapur journal of microbiology*, **2016**, 9(3):e31179.
77. **Lavery G.**, Gorman SP. ve Gilmore BF. Biomolecular Mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* Biofilm Formation. *Pathogens*, **2014**, 18;3(3):596-63.
78. **Lazăr V.** ve Chifiriuc MC. Medical significance and new therapeutical strategies for biofilm associated infections. *Roum Arch Microbiol Immunol* , **2010**, 69:125–138.
79. **Lery LM.**, Frangeul L., Tomas A., Passet V., Almeida AS. ve ark. Comparative analysis of *Klebsiella pneumoniae* genomes identifies a phospholipase D family protein as a novel virulence factor. *BMC Biol.* **2014**, 12: 41
80. **Li B.**, Zhao Y., Liu C., Chen Z. ve Zhou D. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiol.* **2014**, 9(9):1071-81
81. **Li B.**, Yi Y., Wang Q., Woo PC., Tan L., Jing H. ve ark. Analysis of Drug Resistance Determinants in *Klebsiella pneumoniae* Isolates from a Tertiary-Care Hospital in Beijing, China. *PLoS One.* **2012**, 7(7): e42280.
82. **Li L.** ve Huang H. Risk factors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Medicine (Baltimore).* **2017**, 96(35): e7924.
83. **Li W.**, Sun G., Yu Y., Li N., Chen M. ve ark. Increasing occurrence of antimicrobial-resistant hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* isolates in China. *Clin Infect Dis.* **2014**, 58(2):225-32
84. **Liu P.**, Li X., Luo M., Xu X., Su K. ve ark. Risk Factors for Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection: A Meta-Analysis. *Microb Drug Resist.* **2018**, 24(2): 190–198.
85. **Livermore DM.** beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical microbiology reviews*, 1995, 8(4):557-84.
86. **Long DY.**, Hu SP., Chen XC., Liu L. ve Chen YX. Persisters and their effects on microbial biofilm tolerance: a review. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, **2010**, 21(10):2707-14.
87. **Magill SS.**, Edwards JR., Bamberg W., Beldavs ZG., Dumyati G. ve ark. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. *N. Engl. J. Med.* **2014**, 370(13): 1198–1208.

88. **Magiorakos AP.**, Srinivasan A., Carey RB., Carmeli Y., Falagas ME. Ve ark. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*, **2012** , 18(3):268-81.
89. **Manyaslı GB.** Kan Kültüründe Üreyen Biyofilm Oluşturan ve Oluşturmayan *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında İn-vitro Antimikrobiyal Etkileşimlerin Gösterilmesi. **2022**
90. **Markogiannakis A.**, Tzouvelekis LS., Psychogiou M., Petinaki E. ve Daikos GL. Confronting carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Future microbiology*, **2013**, 8 (9): 1147-61.
91. **Martin RM.** ve Bachman MA. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, **2018**, 8:4.
92. **Martin RM.**, Cao J., Brisse S., Passet V., Wu W. ve ark. Molecular Epidemiology of Colonizing and Infecting Isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere*. **2016**, 1(5): e00261-16.
93. **Martínez-Romero E.**, Rodríguez-Medina N., Beltrán-Rojel M., Toribio-Jiménez J. ve Garza-Ramos U. *Klebsiella variicola* and *Klebsiella quasipneumoniae* with capacity to adapt to clinical and plant settings. *Salud Publica Mex.* **2018**, 60(1):29-40.
94. **Mijović G.**, Čizmović L., Vuković MN., Stamatović S. ve Lopičić M. Antibiotic Consumption in Hospitals and Resistance Rate of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Montenegro. *Acta Clin Croat.* **2020**, 59(3): 469–47.
95. **Mirzaie A** ve Ranjbar R. Antibiotic resistance, virulence-associated genes analysis and molecular typing of *Klebsiella pneumoniae* strains recovered from clinical samples. *AMB Express*. **2021**; 11: 122.
96. **Molton JS.**, Tambyah PA., Ang BS., Ling ML. ve Fisher DA. The global spread of healthcare-associated multidrug-resistant bacteria: a perspective from Asia. *Clin Infect Dis.*,**2013**, 56(9):1310-8.
97. **Munoz-Price LS.**, Poirel L., Bonomo RA., Schwaber MJ., Daikos GL. ve ark. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis.* **2013**, 13(9): 785–796.
98. **Murphy CN.**, Mortensen MS., Krogfelt KA. ve Clegg S. Role of *Klebsiella pneumoniae* type 1 and type 3 fimbriae in colonizing silicone tubes implanted into the bladders of mice as a model of catheter-associated urinary tract infections. *Infection and immunity*, **2013**, 81 (8): 3009-17.
99. **Murphy CN.** ve Clegg S. *Klebsiella pneumoniae* and type 3 fimbriae: nosocomial infection, regulation and biofilm formation. *Future Microbiol*, **2012**, 7(10):1234.
100. **Nadell CD.**, Drescher K., Wingreen NS. ve Bassler BL. Extracellular matrix structure governs invasion resistance in bacterial biofilms. *ISME J*, **2015**, 9(8):1700-9
101. **Navon-Venezia S.**, Kondratyeva K. ve Carattoli A. *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* **2017**, 41(3):252-275.
102. **Nelson G.**, Greene M. Enterobacteriaceae. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9th ed. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ; **2019**. p. 2669–85.
103. **Nemati Zargarani F.**, Akya A., Ghadiri K., Ranjbarian P. ve Rostamian M. Detecting the Dominant T and B Epitopes of *Klebsiella pneumoniae* Ferric Enterobactin Protein (FepA) and Introducing a Single Epitopic Peptide as Vaccine Candidate. *Int J Pept Res Ther.* **2021**; 27(4): 2209–2221.
104. **Nordmann P. ve Poirel L.** The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clinical microbiology and infection*, **2014**, 20(9):821-30.
105. **Nordmann P.**, Dortet L.ve Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! . *Trends Mol Med*, **2012**, 18(5):263-72.
106. **Nordmann P.**, Naas T. ve Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerging infectious diseases*, **2011**, 17 (10): 1791-8.
107. **Odonkor ST.** ve Addo KK. Bacteria Resistance to Antibiotics: Recent Trends and Challenges. *International Journal of biological and Medical Search*, **2011**, 2 (4): 1204 – 1210.
108. **Oleksy-Wawrzyniak M.**, Junka A., Brożyna M., Paweł M., Kwick B. ve ark. The In Vitro Ability of *Klebsiella pneumoniae* to Form Biofilm and the Potential of Various Compounds to Eradicate It from Urinary Catheters. *Pathogens*. **2022**, 11(1): 42.
109. **Olsen I.** Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **2015**, 34(5):877-86.
110. **Opoku-Temeng C.**, Kobayashi SD. ve DeLeo FR. *Klebsiella pneumoniae* capsule polysaccharide as a target for therapeutics and vaccines. *Comput Struct Biotechnol J.* **2019**, 17: 1360–1366
111. **Oueslati S.**, Nordmann P. ve Poirel L. Heterogeneous hydrolytic features for OXA-48-like β -lactamases. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, **2015**, 70 (4): 1059-63.
112. **Özer B. ve Erdem Uysal M.** Biyofilm, Klinik Önemi, Kontrolü ve Tedavisi *Mikrobiyolojide Güncel Konular*. Akademisyen Kitabevi, Ankara, **2021**, s49-69.

113. **Paczosa MK.** ve Meccas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiology and molecular biology reviews*, **2016**, 15;80(3):629-61.
114. **Pan YJ.**, Lin TL., Chen CT., Chen YY., Hsieh PF. ve ark. Genetic analysis of capsular polysaccharide synthesis gene clusters in 79 capsular types of *Klebsiella* spp. *Sci Rep.* **2015**, 5: 15573.
115. **Parlak M.**, Çıkman A., Bektaş A. ve Berktas M. Extended spectrum beta-lactamase production and antibiotic resistance in *Escherichia Coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains: five-year follow up results. *Sakarya Medical Journal*, **2012**, 2(1):11-15.
116. **Piperaki ET.**, Syrogiannopoulos GA., Tzouveleakis LS . ve Daikos GL. *Klebsiella pneumoniae*: Virulence, Biofilm and Antimicrobial Resistance. *Pediatr Infect Dis J*, **2017**, 36(10):1002-1005.
117. **Podschun R.** ve Ullmann U. *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clinical microbiology reviews*, **1998**, 11(4): 589–603.
118. **Poirel L.**, Castanheira M., Carrër A., Rodriguez CP., Jones RN. ve ark. OXA-163, an OXA-48-related class D β -lactamase with extended activity toward expanded-spectrum cephalosporins. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **2011**, 55 (6): 2546-51.
119. **Poirel L.**, Héritier C., Tolün V. ve Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **2004**, 48 (1): 15-22.
120. **Poirel L.**, Potron A. ve Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, **2012**, 67 (7): 1597-606.
121. **Pomakova DK.**, Hsiao CB., Beanan JM., Olson R., MacDonald U. ve ark. Clinical and phenotypic differences between classic and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: an emerging and under-recognized pathogenic variant. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, **2012**, 31 (6): 981-9.
122. **Procop G.**, Church D, Hall G, Janda W, Koneman E, Schreckenberger P, et al. Enterobacteriaceae Ailesi. In: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th ed. Jones & Bartlett Learning, Çev: Çelikkilek N, Çöplü N, Apan TZ; **2017**. p. 229,269-272.
123. **Prokesch BC.**, TeKippe M., Kim J., Raj P., TeKippe EM. ve ark. Primary osteomyelitis caused by hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet Infect Dis*, **2016**, 16(9):e190-e195.
124. **Rahdar HA.**, Malekabad ES., Dadashi AR., takei E., Keikha M. ve ark. Correlation between biofilm formation and carbapenem resistance among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Ethiop J Health Sci.* **2019**, 29(6): 745–750.
125. **Renner LD.** ve Weibel DB. Physicochemical regulation of biofilm formation. *MRS Bull*, **2011**, 36(5):347-355.
126. **Rodríguez-Baño J.**, Cisneros JM., Cobos-Trigueros N., Fresco G., Navarro-San Francisco C. ve ark. Diagnosis and antimicrobial treatment of invasive infections due to multidrug-resistant Enterobacteriaceae. Guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, **2015**, 33(5):338-41.
127. **Russo TA.** ve Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Microbiol Rev.* **2019**, 32(3): e00001-19.
128. **Russo TA.**, Olson R., MacDonald U., Beanan J. ve Davidson BA. Aerobactin, but not yersiniabactin, salmochelin, or enterobactin, enables the growth/survival of hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* ex vivo and in vivo. *Infection and immunity*, **2015**, 83 (8): 3325-33.
129. **Russo TA.**, Olson R., Macdonald U., Metzger D., Maltese LM. ve ark. Aerobactin Mediates Virulence and Accounts for Increased Siderophore Production under Iron-Limiting Conditions by Hypervirulent (Hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun.* **2014**, 82(6): 2356–2367.
130. **Sadekuzzaman M.**, Yang S., Mizan MFR., Ha SD. Current and recent advanced strategies for combating biofilms. *Comprehensive Reviews*, **2015**, 14:491–509.
131. **Samasti M.**, Koçoğlu ME., Davarcı İ., Vahaboğlu H., ve Çaşkurlu H. Investigation of Carbapenemase Genes and Clonal Relationship in Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains. *Bezmialem Science*, **2019**, 7(3):186-90.
132. **Sanikhani R.**, Moeinirad M., Solgi H., Hadadi A., Shahcheraghi F. ve ark. The face of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples of two Iranian teaching hospitals. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, **2021**,20(1):58.
133. **Schroll C.**, Barken KB., Krogfelt KA. ve Struve C. Role of type 1 and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation. *BMC microbiology*, **2010**, 23;10:179.
134. **Shadkam S.**, Goli HR., Mirzaei B., Gholami M. ve Ahanjan M. Correlation between antimicrobial resistance and biofilm formation capability among *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from hospitalized patients in Iran. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* **2021**, 20: 13.

135. **Shahraki-Zahedani S**, Rigi S., Bokaeian M., Ansari-Moghaddam A. ve Moghadampour M. First report of TEM-104-, SHV-99-, SHV-108-, and SHV-110-producing *Klebsiella pneumoniae* from Iran. *Rev Soc Bras Med Trop*, **2016**, 49(4):441-5.
136. **Shaikh S**, Fatima J., Shakil S., Rizvi SM. ve Kamal MA. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi journal of biological sciences*, **2015**, 22 (1): 90-101.
137. **Shao C.**, Wang W., Liu S., Zhang Z., Jiang M. ve ark. Molecular Epidemiology and Drug Resistant Mechanism of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Elderly Patients With Lower Respiratory Tract Infection. *Front Public Health*. **2021**, 9: 669173.
138. **Shon AS.**, Bajwa RP. ve Russo TA. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. *Virulence* **2013**, 4:107–118.
139. **Singhai M.**, Malik A., Shahid M., Malik MA. ve Goyal R. A study on device-related infections with special reference to biofilm production and antibiotic resistance. *J Glob Infect Dis*, **2012**, 4(4):193-8.
140. **Siu LK.**, Yeh KM., Lin JC., Fung CP., Chang FY. Ve ark. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: a new invasive syndrome. *The Lancet. Infectious diseases*, **2012**, 12 (11): 881-7.
141. **Spagnolo AM.**, Anna M., Orlando P., Panatto D., Perdelli F. ve ark. An overview of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology and control measures. *Rev Med Microbiol*, **2014**, 25(1):7-14.
142. **Stahlhut SG.**, Chattopadhyay S., Kisiela DI., Hvidtfeldt K., Struve C. ve ark. Structural and Population Characterization of MrkD, the Adhesive Subunit of Type 3 Fimbriae. *J Bacteriol*. **2013**, 195(24): 5602–5613.
143. **Stahlhut SG.**, Struve C., Krogfelt KA. ve Reisner A. Biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae. *FEMS Immunol Med Microbiol*. **2012**, 65(2): 350–359.
144. **Standiford LR.**, Standiford TJ., Newstead MJ., Zeng X., Ballinger MN. ve ark. TLR4-dependent GM-CSF protects against lung injury in Gram-negative bacterial pneumonia. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology.*, **2012**; 302 (5): 447-54.
145. **Stepanovic S.**, Vukovic D., Dakic I., Savic B. ve Svabic-Vlahovic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods*, **2000**, 40(2):175-9.
146. **Struve C.**, Roe CC., Stegger M., Stahlhut SG., Hansen DS. ve ark. Mapping the Evolution of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *mBio*. **2015**, 6(4): e00630-15
147. **Temkin E.**, Adler A., Lerner A. ve Carmeli Y. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: biology, epidemiology, and management. *Ann N Y Acad Sci*, **2014**, 1323:22-42.
148. **Tian D.**, Wang M., Zhou Y., Hu D., Ou HY., ve ark. Genetic diversity and evolution of the virulence plasmids encoding aerobactin and salmochelin in *Klebsiella pneumoniae*. *Virulence*. **2021**, 12(1): 1323–1333.
149. **Tumbarello M.**, Sanguinetti M., Montuori E., Trecarichi EM., Posteraro B. ve ark. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother*, **2007**, 51(6):1987-94.
150. **Tzouvelekis LS.**, Markogiannaki A., Piperaki E., Souli M. ve Daikos GL. Treating infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect*, **2014**, 20(9):862-72.
151. **van Belkum A.**, Welker M., Pincus D., Charrier JP. ve Girard V. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry in Clinical Microbiology: What Are the Current Issues?. *Ann Lab Med*. **2017**, 37(6): 475–483.
152. **van Duijn PJ.**, Dautzenberg MJ. ve Oostdijk EA. Recent trends in antibiotic resistance in European ICUs. *Curr Opin Crit Care*, **2011**, 17(6):658-65.
153. **Vuotto C.**, Longo F., Balice MP., Donelli G. ve Varaldo PE. Antibiotic Resistance Related to Biofilm Formation in *Klebsiella pneumoniae*. *Pathogens*, **2014**, 3(3): 743–758.
154. **Vuotto C.**, Longo F., Pascolini C., Donelli G., Balice M. ve ark. Biofilm formation and antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae* urinary strains. *J Appl Microbiol*. **2017**, 123(4):1003–18.
155. **Wang G.**, Zhao G., Chao X., Xie L. ve Wang H. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Environ Res Public Health*. **2020**, 17(17): 6278.
156. **WHO.** Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. World Health Organization, Geneva, Switzerland: Erişim: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1. **2014**, Erişim tarihi: 18.07.2022

157. **WHO.** Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance. Annual report **2020**. https://apps.who.int/iris/handle/10665/345873?searchresult=true&query=Central+Asian+and+Europe+an+Surveillance+of++Antimicrobial+Resistance.+Annual+report+2020.&scope=%2F&filtertype_0=author&filter_relational_operator_0>equals&filter_0=World+Health+Organization.+Regional+Office+for+Europe&rpp=10&sort_by=score&order=desc (Erişim tarihi 15.07.2022)
158. **WHO.** Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development. **2017**, <https://www.aidsdatahub.org/resource/who-global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria> Erişim tarihi: 18.07.2022
159. **Willke Topçu A.**, Söyletir G., Doğanay M., editörler. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Özkan C. Klebsiella Türleri, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti.. İstanbul; 4. Baskı, **2017**, s; 1870.
160. **Wyres KL.**, Lam MMC. ve Holt KE. Population genomics of Klebsiella pneumoniae. *Nature Reviews Microbiology* **2020**, 18(6):344-359.
161. **Wyres KL.**, Wick RR., Gorrie C., Jenney A., Follador R. ve ark. Identification of Klebsiella capsule synthesis loci from whole genome data. *Microbial genomics*, **2016**, 2(12):e00010.
162. **Yigit H.**, Queenan AM., Anderson GJ., Domenech-Sanchez A., Biddle JW. ve ark. Novel Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of Klebsiella pneumoniae. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **2001**, 45 (4): 1151–1161.
163. **Yu J.**, Tan K., Rong Z., Wang Y., Chen Z. ve ark. Nosocomial outbreak of KPC-2- and NDM-1-producing Klebsiella pneumoniae in a neonatal ward: a retrospective study. *BMC Infect Dis.* **2016**, 16: 563.
164. **Zavascki AP.**, Bulitta JB. ve Landersdorfer CB. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther*, **2013**, 11(12):1333-53.

ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise eğitimini Şanlıurfa’da tamamladıktan sonra 2014 yılına Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Fakültesi Acil Yardım ve Afet Yönetimi Bölümünü kazandı. Bu programdan 2019 yılında mezun oldu. Yine aynı dönemlerde Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu İlk ve Acil Yardım programından 2017 yılında mezun oldu. 2017 yılından beri aktif olarak Acil Ambulans Bakım Teknikeri (AABT) olarak devlet memuru statüsünde iş hayatına devam etmektedir. 2020 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji (Tıp) Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı.