



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Tıbbi Mikrobiyoloji

Doktora Tezi

***KLEBSIELLA PNEUMONIAE* KLİNİK SUŞLARINDA BETA-LAKTAM
ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN VE QUORUM SENSİNG ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

Muhammet Şükrü AĞRALI
ORCID: 0000-0003-1017-9166

Danışman
Prof. Dr. Metin DOĞAN
ORCID: 0000-0003-3471-4768

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Tarafından 23DR18002 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Konya – 2025



ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilimsel desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, tavsiyeleriyle beni yönlendiren her konuda ilgi ve desteğini benden esirgemeyen, öneri ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, değerli hocam ve tez danışmanım Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Öğretim Üyesi Prof. Dr. Metin Doğan Hocama saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Değerli Hocam Prof. Dr. Mehmet Özdemir Hocama, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalındaki Değerli Hocalarım Prof. Dr. Bahadır Feyzioğlu, Doç.Dr. Fatma EsenkayaTaşbent, Dr. Öğr. Üyesi Selin Uğraklı Hocalarıma doktora eğitimim süresince yardımlarından ve katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca laboratuvarıda teknik desteklerinden dolayı, laboratuvarıda çalışan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Babam Abbas Ağralı'ya ve Annem Fatma Ağralı'ya sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilir, saygılarımı sunarım. Doktora süresince her zaman bana moral veren, destek olan Canım Eşim İlknur Ağralı'ya sonsuz teşekkür ederim.

Muhammet Şükrü AĞRALI

OCAK 2025

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
TEZ ONAY SAYFASI.....	vi
TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU	vii
BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	5
2.1.1. Tarihiçesi ve sınıflandırması:	5
2.1.2. Morfolojik özellikleri:	5
2.1.3. Biyokimyasal özellikleri:	6
2.1.4. Epidemiyolojisi:	7
2.1.5. Patogenezi:	9
2.1.6. Antijen yapısı:	11
2.1.7. Biyofilm oluşumu	11
2.1.8. Virülans faktörleri:	13
2.1.9. Antibiyotik direnci:	22
2.2. Beta-laktam Antibiyotikler	26
2.3. Quorum Sensing	29
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Örneklerin Seçimi	33
3.2. Örneklerin Toplanması, İzolasyonu	33
3.3. Bakterilerin İdentifikasyonu	34
3.4. Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılığı	34
3.5. DNA İzolasyonu ve PCR Çalışması	35
3.5.1. Bakteriden DNA izolasyonu :	35
3.5.2. Bakteriden RNA izolasyonu	36
3.5.3. cDNA eldesi	37
3.5.4. Real time PCR	37
3.6. İstatistiksel Analiz	39

4.BULGULAR	41
5.TARTIŞMA	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
6.1. Sonuç	57
6.2. Öneriler	57
7. KAYNAKLAR	59
8. EKLER	63
8.1.EK 1 Etik Kurul Kararı	63



TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi **MUHAMMET ŞÜKRÜ AĞRALI**'nın "***Klebsiella pneumoniae* Klinik Suşlarında Beta-Laktam Antibiyotik Direnç Genlerinin Ve Quorum Sensing Arasındaki İlişkinin Araştırılması**" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya / 17.01.2025

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Metin Doğan N.EÜ./ Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.	İmzası
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Mahmut Baykan Karamanoğlu Mehmetbey Ü./ Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.	İmzası
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Şevket Arslan N.EÜ./ İç Hastalıkları A.D.	İmzası
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Fatma Esenkaya Taşbent N.EÜ./ Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.	İmzası
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Semih Tokak KTO Karatay Ü./ Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.	İmzası

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 29/01/2025 tarih ve 03/27 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasibe VURAL

Enstitü Müdürü

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

***Klebsiella pneumoniae* Klinik Suşlarında Beta-Laktam Antibiyotik Direnç Genlerinin Ve Quorum Sensing Arasındaki İlişkinin Araştırılması** başlıklı tez çalışmamın toplam 77 sayfalık kısmına ilişkin, 30.01.2025 tarihinde tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **%17** olarak belirlenmiştir.
Uygulanan filtrelemeler:

1. Tez kabul sayfası hariç
2. Tez çalışması orijinallik raporu sayfası hariç
3. Bilimsel etik beyannamesi sayfası hariç
4. Önsöz hariç
5. İçindekiler hariç
6. Simgeler ve kısaltmalar hariç
7. Materyal ve metot hariç
8. Kaynaklar hariç
9. Alıntılar dahil
10. 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tez Çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve tez çalışmamın, bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranının (%30) altında olduğunu ve intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

30.01.2025

İmza

Muhammet Şükrü AĞRALI

İmza

Prof.Dr. Metin DOĞAN

BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini, tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez hazırlama kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını ve bu kaynakların kaynaklar listesine eklendiğini beyan ederim.

30.01.2025

İmza

Muhammet Şükrü AĞRALI

SİMGELER VE KISALTMALAR

KISALTMALAR

- GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
İYE: İdrar yolu enfeksiyonları
K. pnemoniae: *Klebsiella pnemoniae*
QS: Quorum sensing
QSI: Çekirdek algılama inhibitörleri
AHL: N-asil homoserin laktonlar
µm: Mikrometre
EMB agar: Eosin Methylene Blue agar besiyeri
TSI agar: Triple Sugar Iron Agar
IMVİC testleri: İndol, Metil kırmızısı, Voges-Proskauer, Sitrat testleri
cKp: Klasik *Klebsiella pnemoniae*
hvKp: Hipervirülan *Klebsiella pnemoniae*
KDKp: Karbapenem dirençli *K. pneumoniae*
LPS: Lipopolisakkarit
KP: Kapsül polisakkaritleri
CPS: Kapsüler polisakkarit sentezi
DHBS: 2,3-dihidroksibenzoilserin
VİP: Ventilator ilişkili pnemoni
DHBS: Trisiklik 2,3-dihidroksibenzoilserin
RND: Direnç-nodülasyon-bölünmesi
ABC: ATP bağlayıcı kaset
MFS: Ana kolaylaştırıcı süper ailesi
SMR: Küçük çoklu antibiyotik direnci
MATE: Çoklu ilaç ve toksik bileşik ekstrüzyon
MDR: Çoklu ilaca direnç
CCCP: Karbonil siyanür-klorofenilhidrazin
T6SS: Tip VI Salgı Sistemi
KPC: *K. pneumoniae* karbapenemazları
CDC: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri
CRE: Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*
MBL: Metallo-β-laktamazlar
AMR: Antimikrobiyal direnç
β-Laktamlar: Beta-laktam
PBP: Penisilin bağlayıcı proteinler
AIP: Otoindükleyici peptit
EUCAST: Avrupa antimikrobiyal duyarlılık testi komitesi

TABLolar LİSTESİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. <i>Klebsiella</i> türlerinin biyokimyasal reaksiyonları.....	6
Tablo 2.2. Önemli <i>Klebsiella</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri	7
Tablo 3.1. PCR Protokolü.....	37
Tablo 3.2. PCR Reaksiyon Sıcaklık ve Süreleri.....	38
Tablo 3.3. Kullanılan Primerler.....	38
Tablo 4.1. Örneklerin türü ve yüzdesi.....	41
Tablo 4.2. Örneklerin alındığı servis, hasta sayısı ve (%) oranları.....	41
Tablo 4.3. Antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	42
Tablo 4.4. Yeni antibiyotiklerin duyarlılık sonuçları.....	43
Tablo 4.5. Direnç genleri ve quorum sensing genlerinin sayıları ve oranları.....	43
Tablo 4.6. Antibiyotiklerin OXA-48 direnç geni ile oranlarının karşılaştırılması.....	44
Tablo 4.7. Antibiyotiklerin bla _{ndm1} direnç geni ile oranlarının karşılaştırılması.....	45
Tablo 4.8. OXA-48 ve NDM1 için Fold Change ve p-Değerler.....	46

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> bulaşma yolları.....	8
Şekil 2.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> virülans faktörleri ve biyofilm homeostazının şematik gösterimi.....	13
Şekil 2.3. Kalın lifli kapsüler malzeme katmanlarıyla çevrelenmiş <i>K. pneumoniae</i> hücrelerinin transmisyon elektron mikrografı.....	15
Şekil 2.4. <i>K. pneumoniae</i> virülansında kapsülün rolü.....	15
Şekil 2.5. <i>K. pneumoniae</i> virülansında lipopolisakkaritin rolü.....	16
Şekil 2.6. <i>K. pneumoniae</i> virülansında tip 1 Fimbriae.....	18
Şekil 2.7. <i>K. pneumoniae</i> virülansında tip 3 Fimbriae.....	18
Şekil 2.8. <i>K. pneumoniae</i> virülansında sidereforlar.....	20
Şekil 2.9. <i>K. pneumoniae</i> 'ye antibiyotik direnç kazandıran çeşitli mekanizmalar.....	26
Şekil 2.10. Gram negatif bakterilerde LuxI/LuxR tipi quorum sensing algılama.....	31
Şekil 2.11. Gram pozitif bakteri <i>S. mutans</i> 'ta iki tip sinyalleme peptit aracılı quorum sensing sistemi.....	32
Şekil 3.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> EMB agar görüntüsü.....	33
Şekil 3.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> kanlı agar görüntüsü	34

ÖZET

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Tıbbi Mikrobiyoloji
Doktora Tezi

***KLEBSIELLA PNEUMONIAE* KLİNİK SUŞLARINDA BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN VE QUORUM SENSİNG ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

Muhammet Şükrü AĞRALI

Konya-2025

Enterobacteriaceae ailesinden *Klebsiella* cinsinde bulunan çubuk şeklinde Gram negatif bir bakteri olan *Klebsiella pneumoniae* toplum ve sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar (SHİE)'da önemli bir patojendir. *Klebsiella* türleri sağlık hizmeti ilişkili (SHİ) pnömoni, sepsisemi, idrar yolu enfeksiyonu, yenidoğan sepsisemisinin, yara ve yumuşak doku enfeksiyonlarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Çoklu ilaca dirençli *Klebsiella* türlerinin hastane salgınlarına, genellikle genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten yeni tür suşlar sebep olmaktadır. GSBL'leri, karbapenemazları ve çeşitli aminoglikozitleri inaktive eden enzimleri kodlayan *Klebsiella* spp.'nin çoklu ilaca dirençli suşlarının yaygın şekilde çoğalması, bu patojenlere olan küresel ilgiyi arttırmaktadır. *K.pneumoniae*'de karbapenem direncinden sorumlu birkaç mekanizma vardır. Bu mekanizmalar, Ambler sınıfı A (*K.pneumoniae* carbapenemase, KPC), B (metallo enzimler NDM, VIM ve IMP) ve D (oksasilin enzimi, OXA) olarak sınıflandırılan bir karbapenemaz üretimidir. Quorum sensing (QS), bakterilerin otoindükleyiciler tarafından salgılanmış kimyasal sinyal moleküllerini kullanarak iletişim kurduğu bir mekanizmadır. Biyofilm formasyonu, virulans adaptasyonu, antimikrobiyal madde üretimi, hareket ve sporulasyon gibi gen düzenlenmesinin çok çeşitli mekanizmalarında QS'in rol aldığı bildirilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda, hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 *K. pneumoniae* izolatının antibiyotik duyarlılıkları, direnç genleri ve QS arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya Mart 2022-Mart 2024 tarihleri arasında tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen 100 *K. pneumoniae* izolatı dahil edilmiştir. İzolatlar eosin metilen blue (EMB) agar ve kanlı agara ekimi yapılmış ve örnekler 35°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Tanımlama çalışmaları Vitek 2 Maldı-Tof Ms (Biomerieux, France) ile antibiyogram çalışmaları BD Phoenix otomatize sistemi (Becton-Dickinson, ABD) kullanılmış, duyarlılık sonuçları FDA ve EUCAST kriterleri esas alınarak belirlenmiştir.

GSBLüretimi bütün izolatlarda %65 oranında saptanmıştır. Antibiyotik duyarlılığı en yüksek tigesiklin, en yüksek direnç ampicilinde gözlemlenmiştir. Yeni antibiyotiklerden delafloksasin(DLX), ceftolozane-tazobactam(CT), meropenem-vaborbactam(MEV), ceftazidime-avibactam(CZA) duyarlılık sonuçları sırasıyla %25, %42,%56 ve %62 bulunmuştur. Direnç genleri, OXA-48 %35, NDM %13 ve KPC %4 olarak bulunmuştur. IMP ve VIM direnç geni hiçbir izolatta bulunamamıştır. QS genlerinden LuxS %98, LsrR %98 ve LsrK %97 oranında tespit edilmiştir.

Günümüzde, bakterilerin antibiyotiklere karşı hayatta kalmak için farklı yollarla direnç geliştirme yeteneğine sahip oldukları bilinmektedir. Bundan dolayı bakteriler arasındaki QS mekanizmasının engellenmesi, virülansı, biyofilm oluşumunu ve bakteriyel direnç mekanizmalarını azaltarak bakteriyel kaynaklı hastalıkların önlenmesinde kullanılması umut vericidir. Gelecekte oluşacak bakteriyel hastalıkların tedavisinde QS mekanizmasını engelleyecek çeşitli inhibitörlerin belirlenmesi farklı bir tedavi yolu olarak umut vadetmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, direnç genleri, *klebsiella pneumoniae*, quorum sensing.

ABSTRACT

Necmettin Erbakan University, Graduate School of Health Sciences
Department of Medical Microbiology
Medical Microbiology
Doctoral Thesis

INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN BETA-LACTAM ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES AND QUORUM SENSING IN CLINICAL STRAINS OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Muhammet Şükrü AĞRALI

Konya-2025

Klebsiella pneumoniae, a rod-shaped Gram-negative bacterium in the genus *Klebsiella* of the *Enterobacteriaceae* family, is an important pathogen in community and healthcare-associated infections (HCAI). *Klebsiella* species constitute a significant portion of healthcare-associated pneumonia (HAIP), septicemia, urinary tract infection, neonatal septicemia, wound and soft tissue infections. Hospital outbreaks of multidrug-resistant *Klebsiella* spp. are often caused by new strains that produce extended-spectrum β -lactamases (ESBL). The widespread proliferation of multidrug-resistant strains of *Klebsiella* spp., which encode enzymes that inactivate ESBLs, carbapenemases, and various aminoglycosides, is increasing global interest in these pathogens. There are several mechanisms responsible for carbapenem resistance in *K. pneumoniae*. These mechanisms are the production of a carbapenemase classified as Ambler class A (*K. pneumoniae* carbapenemase, KPC), B (metallo-enzymes NDM, VIM and IMP) and D (oxacillin enzyme, OXA). Quorum sensing is a mechanism by which bacteria communicate using chemical signaling molecules secreted by auto-inducers. It has been reported that QS plays a role in a wide variety of gene regulation mechanisms such as biofilm formation, virulence adaptation, antimicrobial substance production, movement and sporulation. Therefore, our study aimed to investigate the relationship between antibiotic susceptibilities, resistance genes and QS of 100 *K. pneumoniae* isolates isolated from various clinical samples sent to our hospital's microbiology laboratory.

A total of 100 *K. pneumoniae* isolates isolated from samples sent from various clinics to the medical microbiology laboratory of Necmettin Erbakan University Faculty of Medicine Hospital between March 2022 and March 2024 were included in the study. Isolates were cultured on eosin methylene blue (EMB) agar and blood agar and samples were incubated at 35°C for 24-48 hours. Identification studies were carried out using the Vitek 2 Maldi-Tof MS (Biomérieux, France) and antibiogram studies using the BD Phoenix automated system (Becton-Dickinson, USA), and susceptibility results were determined based on FDA and EUCAST criteria.

Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production was detected in 65% of all isolates. The highest antibiotic susceptibility was observed for tigecycline and the highest resistance was observed for ampicillin. The sensitivity results for new antibiotics delafloxacin (DLX), ceftolozane-tazobactam (CT), meropenem-vaborbactam (MEV), ceftazidime-avibactam (CZA) were found to be 25%, 42%, 56% and 62%, respectively. Resistance genes were found as OXA-48 35%, NDM 13% and KPC 4%. IMP and VIM resistance genes were not found in any isolate. Among the QS genes, LuxS was detected at 98%, LsrR at 98% and LsrK at 97%.

Today, it is known that bacteria have the ability to develop resistance to antibiotics in different ways to survive. Therefore, It is promising that preventing the QS mechanism between bacteria is used in the prevention of bacterial diseases by reducing virulence, biofilm formation and bacterial resistance mechanisms. In the treatment of future bacterial diseases, the determination of various inhibitors that will prevent the QS mechanism is promising as a different treatment method.

Keywords: Antibiotic resistance, resistance genes, *klebsiella pneumoniae*, quorum sensing.



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Klebsiella pneumoniae Gram negatif, kapsüllü, hareketsiz bir bakteridir. Çevrede yüzey sularında, toprakta ve tıbbi cihazlarda bulunabilmektedir. *K. pneumoniae*, insan mukozal yüzeylerini ve gastrointestinal sisteminde kolonize olabilir. Bu bölgelerden diğer dokulara geçerek insanlarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Paczosa ve Mecsas,2016). Hastane ve toplum kökenli enfeksiyonlarda en yaygın patojenler arasında *K. pneumoniae* da bulunmaktadır. *K. pneumoniae* sağlıklı insan ve hayvanların solunum yollarında ve bağırsaklarında da kolonize olabilir. Pnömoni, menenjit, karaciğer apsisi, idrar yolu enfeksiyonu ve sepsis gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır (Huang ve ark., 2022).

K.pneumoniae'nin çeşitli antibiyotiklere direnç kazanabildiği ve özellikle ampisiline doğal dirençli olduğu bildirilmiştir. Sefalosporin ve aminoglikozid grubu antibiyotikler *K. pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmasına rağmen *K. pneumoniae* izolatlarının sefalosporinlere karşı direnç geliştirmekte olduğu bildirilmiştir (Kahraman ve ark., 2017). *Klebsiella* türlerinin kolonizasyonu ile hastanede uzun süre yatış, geçirilmiş operasyon öyküsü, damar içi ve üriner kateter uygulanması ve antibiyotik kullanımıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu bakterilerde, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) yapımı antibiyotiklere karşı dirençten sorumlu en önemli mekanizmadır (Temiz ve ark., 2015). Bu yüzden *K. pneumoniae*'nin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde genellikle karbapenemler tercih edilmektedir. Fakat karbapenem kullanımının yaygınlaşması ile birlikte karbapenemlere karşı da direnç geliştiğine dair bildirimler yapılamaya başlamıştır (Kahraman ve ark., 2017). Kliniklerde karbapenemlerin kullanımının artmasından dolayı, dünya çapında karbapenem dirençli *K. pneumoniae* (KDKp) klinik izolatlarında artış görülmektedir. Karbapenem direncine sebep olan, bilinen en önemli mekanizma karbapenemaz enzimleridir (Doğan ve Uğraklı, 2023).

Karbapenemlere karşı direnç mekanizmalarından olan enzimatik direnç; Yapısal mutasyonlarla olan beta-laktamaz aktivitesi ve karbapenem antibiyotiklerini hidrolize eden karbapenemaz enzimlerinin üretimi olmak üzere iki mekanizmadan meydana gelir. Ambler sınıflandırmasına göre, karbapenemazlar moleküler yapılarına göre; A sınıfı B sınıf ve D sınıfı olarak ayrılırlar.

A sınıfında KPC, GES, IMI, NMC-A, SME, SFC karbapenemaz genleri bulunur. Bu genler arasında dünyada genelinde yaygın transfer edilebilir gen, KPC genidir.

KPC genini bulunduran suşlar beta-laktam antibiyotiklerin hepsini hidrolize edebilir. Ayrıca blaKPC taşıyan suşlar fluorokinolon, aminoglikozid, trimetoprim-sülfametaksazol'e de dirençli olan çoklu ilaca dirençli suşlardır.

Oksasilini hidrolize edebilmeleri nedeniyle, Sınıf D enzimler OXA tipi beta-laktamazlar olarak adlandırılırlar. Özellikle OXA-48 tip enzim *K. pneumoniae*'da en sık bulunan enzimdir.

Sınıf B metallo beta-laktamazlar kompleks bir grup enzimdir. Beta-laktamaz inhibitörleri tarafından inhibe edilemezler. IMP, VIM ve NDM genleri *Enterobacteriaceae*'ler içinde transfer edilebilen MBL genleri dir (Telli, 2022).

En yaygın olan direnç genleri arasında olan KPC, IMP, NDM, VIM, OXA-48 direnç genleri farklı ülkelerde endemik olarak saptanabilir. Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda en sık saptanan karbapenemaz geni OXA-48 genidir. Ancak, sıklıkta KPC ve NDM direnç genleri de görülmektedir (Telli, 2022).

Bakterilerin popülasyon yoğunluğundaki farklılıklara göre yanıt olarak biyolojik işlevlerin düzenlenmesinde etkili olan ve mekanizma olarak çevresel adaptasyonu sağlayan quorum sensing (QS), hücreler arası iletişim sistemidir (Chen ve ark., 2020). Bu mekanizma sayesinde mikroorganizmalar ürettikleri sinyal moleküllerinin yoğunluğunu ölçebilmekte ve çevrelerindeki diğer mikroorganizmaların miktarını da hissedebilmektedir. Bunun sonucunda bir hücreden diğerine sinyal molekülleri ile ileterek koloni gibi davranış şekilleri gösterebilmektedirler. Biyofilm formasyonu, virulans adaptasyonu, antimikrobiyal madde üretimi, hareket ve sporulasyon gibi gen düzenlenmesinin çok çeşitli mekanizmalarında QS mekanizmalarının rol aldığı bildirilmiştir (Yeniçeri, 2018).

Gram-negatif bakterilerde en çok çalışılan QS sinyal molekülleri, N-asil homoserin laktonlar (AHL)'dir. AHL'ler genellikle LuxI'e homolog bir protein tarafından üretilir ve sırayla LuxR proteinine bağlanırlar. Bir AHL'nin eşik seviyesi bakteri tarafından tespit edildiğinde, transdüksiyon antimikrobiyal maddelerin üretimi ve konağın savunma mekanizmalarına karşı koruma dahil olmak üzere bu mekanizmaları kontrol eden genlerin uyarılmasına yol açmaktadır (Yin ve ark.,2012).

Gram pozitif bakterilerde kullanılan mekanizma sinyal iletimi oligopeptitlere bağlı iki bileşenli fosforlama zinciri kullanılır. Üçüncü QS mekanizmasında *V. harveyi* modeli olarak da adlandırılan hibrit sistemdir.

Bu sistemde hem oligopeptidler hem de LuxI/LuxR tipi proteinler hücre içinde sinyal yolunda görev alırlar. LuxLM tarafından: AI-1 molekölü üretilirken, LuxS tarafından AI-2 sinyal molekölü üretilir. Üretilen AI-1 sinyal molekölü tür içi sinyalleşmeyi sağlarken, AI-2 sinyal molekölü türler arası sinyalleşmeyi sağlar (Filik ve Kubilay, 2019).

K. pneumoniae'nin LuxS sinyal molekülleri salgıladığı *Vibrio harveyi*'de AI-2 sentezi için gerekli gen olan LuxS'nin bir homologu, *K. pneumoniae* genomundan izole edildiği bildirilmiştir (Balestrino ve ark., 2005).

Bu çalışmada *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin direnç genlerinin araştırılması, sub-minimal inhibitör konsantrasyonlarının (sub-MİK) yapımı üzerine etkilerinin ve QS genleri arasındaki ilişkinin araştırılması ve bazı yeni antibiyotiklere karşı direnç profilinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Klebsiella pneumoniae*

2.1.1. Tarihçesi ve sınıflandırması:

İlk kez 1875'te Edwin Klebs tarafından pnömoni hastalığından ölen bir hastanın solunum yollarından izole edilmiş. Daha sonra 1882'de Carl Friedländer tarafından tanımlanmış ve bir süre Friedlander basili olarak isimlendirilmiştir (Chang ve ark., 2021). Carl Friedländer zatüreden ölenlerin akciğerlerinden bakteriyi izole etmiş ve sonra onu kapsüllü bir basil olarak tanımlamıştır. *K. pneumoniae* de diğer immobilize *Klebsiella* türleri gibi bir polisakkarit kapsüle sahiptir. 1886 yılına kadar Friedlander basili olarak adlandırılan bakteri, 1886 yılından sonra *Klebsiella* adını aldı. Gram negatif bir bakteri olan *K. pneumoniae*, *Enterobacteriaceae* familyasına aittir (Ashurst ve Dawson, 2023; Wyres ve ark., 2020; Amani ve ark., 2020).

Klebsiella cinsindeki türler: *Klebsiella pneumoniae* (subsp. *pneumoniae*, subsp. *ozaenae*, subsp. *rhinoscleromatis*), *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella variicola* (subsp. *Tropikalensis*), *Klebsiella granulomatis*, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella africanensis*, *Klebsiella grimontii* ve *Klebsiella quasipneumoniae* (subsp. *quasipneumoniae* ve subsp. *similipnömonie*) olarak tanımlanmıştır. Fenotiplerine ve patojenite doğasına göre klasik (cKp) ve hipervirülan (hvKp) suşlar olarak sınıflandırılır (Patro ve Rathinavelan, 2019;).

2.1.2. Morfolojik özellikleri:

Çevrede yüzey sularında *Klebsiella* türleri, çubuk şeklinde sporsuz, Gram negatif bakterilerdir. Etrafında bulunan geniş kapsül polisakkarit yapıdadır. Tek tek, ikili veya kısa zincirler halinde görülen çomaklardır. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar. Çoğunluğunda tip 1 fimbriyalar bulunur (Patro ve Rathinavelan, 2019; Bilgehan, 2000; Bozkaya, 2005). *Enterobacteriaceae* familyasının diğer üyelerinden farklı olarak, *Klebsiella* cinsinin üyeleri daha kısa ve kalındır ve yaklaşık 1–2 µm uzunluğunda ve 0,8–0,8 µm genişliğindedir. *K. pneumoniae*, fakültatif anaerobik, flagellasız ve hareketsiz olan bir basildir (Huang ve ark., 2022; El Fertas-Aissani ve ark., 2013; Martin ve ark., 2016).

2.1.3. Biyokimyasal özellikleri:

Diğer bağırsak bakterileri gibi genel kullanım besiyerlerinde 37°C de ve pH 7 de iyi ürerler. Karbonhidrat bulunduran ortamlarda ve azot bulundurmeyen ortamlarda büyük bir kapsül üretir. Bu organizmalarda üreaz, lisindekarboksilaz testleri ve VP testi pozitifken, ornitin dekarboksilaz, arginin dehidrolaz ve indol üretimi testleri negatiftir. Bu organizmanın hidrojen sülfür gazı üretimi piroliz olmaksızın TSI ortamında asidiktir. Metil kırmızısı testi negatif, Voges proskauer testi pozitif olup sitratlı besiyerlerinde ürerler. IMViC testleri negatif, negatif, pozitif, pozitifdir (Amani ve ark., 2020; Bilgehan, 2000; Martin ve Bachman, 2018).

Bu bakterileri diğer bağırsak bakterilerinden ayıran özelliklerden biri nişastayı en geç 4 gün içinde parçalayarak gaz yapmalarıdır. Bu bakterinin isteğe bağlı anaerobik ortamda üremesine rağmen, mutlak anaerobik koşullar altında üremesi zayıftır. Kanlı agar ortamında kırmızı kan hücrelerini parçalama yeteneği yoktur. Laktozu fermente eder. Agar ortamında, bakteriyel dış membrana bağlı polisakkarit kapsülün sağladığı mukoid bir fenotipe sahiptir. *Enterobacteriaceae* familyasında *Klebsiella* türü, havadaki nitrojeni stabilize etme ve onu amonyak ve amino asitlere dönüştürme yeteneğine sahip tek cinstir (Amani ve ark., 2020; Bilgehan, 2000; Martin ve Bachman, 2018). Tablo 2.1. ve 2.2 de *Klebsiella* türlerinin biyokimyasal reaksiyonları ve önemli *Klebsiella* türlerinin biyokimyasal özellikleri gösterilmiştir.

Tablo 2.1 *Klebsiella* türlerinin biyokimyasal reaksiyonları (Podschun ve Ullmann, 1998).

Characteristic	<i>Klebsiella pneumoniae</i>			<i>K. oxytoca K. terrigena K. planticola K. ornithinolytica</i>			
	subsp. <i>pneumoniae</i>	subsp. <i>ozaenae</i>	subsp. <i>rhinoscleromatis</i>				
Indole	-	-	-	+	-	v ^b	+
Ornithine decarboxylase	-	-	-	-	-	-	+
Lysine decarboxylase	+	v	-	+	+	+	+
Pectate degradation	-	-	-	+	-	-	-
Gas from lactose at 44.5°C	+	-	-	-	-	-	-
Growth at 10°C	-	-	-	+	+	+	+
Acid from:							
D-Melezitose	-	-	-	v	+	-	-
L-Sorbose	v			+	+	+	
Utilization of:							
m-Hydroxybenzoate	-	-	-	+	+	-	-
Hydroxy-L-proline	v			v	v	+	
Malonate	+	-	+	+	+	+	+
Methyl red test	-	+	+	-	+	v	+
Voges-Proskauer reaction	+	-	-	+	+	+	+

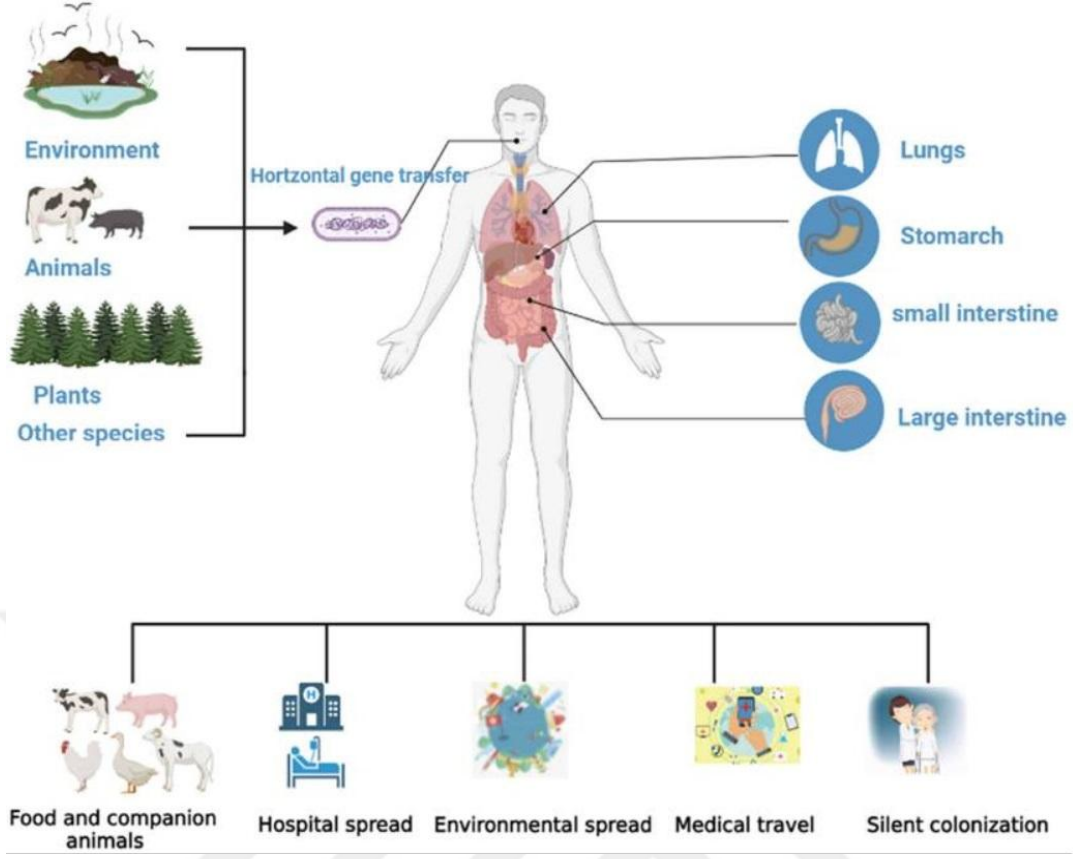
V : değişken

Tablo 2.2. Önemli *Klebsiella* türlerinin biyokimyasal özellikleri (Bozkaya 2005).

TESTLER	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>
Hareket	Negatif	Negatif
Arginin	Negatif	Negatif
DNaz(25°C)	Negatif	Negatif
Jelatinaz(22°C)	Negatif	Negatif
FERMENTASYON		
Laktoz	Pozitif	Pozitif
Sukroz	Pozitif	Pozitif
Sorbitol	Pozitif	Pozitif
Adenitol	Pozitif	Pozitif
Arabinoz	Pozitif	Pozitif

2.1.4. Epidemiyolojisi:

Klebsiella türleri genellikle fırsatçı patojenler olup, hayvan ve insan bağırsak ve mikrobiyotasında bulunur. Bu mikroorganizmalar insan solunum yolları, mide ve bağırsak doğal mikroflorasına katkı sağlar. Bitkiler ve memelileri kolonize ederler (Amani ve ark., 2020;Patro ve Rathinavelan, 2019). *Klebsiella* türleri doğada her yerde bulunurlar. *Klebsiella* türleri toprakta, bitkilerde, yüzey sularında, kanalizasyonlarda ve kolonileştirdikleri insanlar, atlar veya domuzlarda mukozal yüzeylerinde yaşayabilirler. İnsanlarda nazofarinkste ve bağırsak kanalında *K. pneumoniae* saprofit olarak yaşayabilir. Hastanın gastrointestinal sistemi ve hastane personelinin elleri enfeksiyonun ana rezervuarlarıdır (Şekil 2.1.). Sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar (SHİE) bir salgına yol açabilir. Taşıyıcılık oranları çalışmadan çalışmaya önemli ölçüde farklılık göstermektedir.



Şekil 2.1. *Klebsiella pneumoniae* bulaşma yolları (Li ve ark., 2023).

Hastane dışı ortamlarda *Klebsiella*'nın nazofarinkteki taşıyıcılık oranları %1 ila %6 arasında iken dışkı örneklerinde taşıyıcılık oranları %5 ila %38 arasında değişmektedir (Chang ve ark., 2021; Lourenço ve ark., 2023; Ashurst ve Dawson, 2023). Kolonizasyon oranları hastane ortamında kalış süresiyle doğru orantılı olarak artmaktadır. *Klebsiella* taşıyıcılığı hastane personellerinde yüksek oranda görülmektedir. Hastanede yatan hastalarda bildirilen taşıyıcılık oranları hastaların ellerinde %42 iken, farenkste %19 ve dışkıda %77'dir (Podschun ve Ullmann, 1998).

K.pneumoniae'nin toplum kökenli veya hastane kökenli pnömonilere neden olduğu bilinmekte olup, toplum kökenli pnömonilerde daha nadir etkenlerdir, fakat oldukça yaygın bir tanı almaktadır. Tüm toplum kökenli pnömonilerin, genel olarak, Batı kültüründe, yaklaşık %3 ila %5'inin *K. pneumoniae* ilişkili olduğu düşünülmektedir, ancak gelişmekte olan Afrika gibi ülkelerde tüm vakaların yaklaşık %15'ini oluşturabilirler (Ashurst ve Dawson, 2023).

Dünyadaki tüm sağlık hizmeti ilişkili (SHİ) pnömonilerin yaklaşık %11,8'ini *K. pneumoniae* oluşturmaktadır. *K. pneumoniae* ventilatöre bağlı gelişen pnömonilere %8 ila %12 oranında enfeksiyon etkeni olarak gösterilmektedir. Alkolizm ve septisemi hastalarında mortalite %50 ile %100 arasındadır (Ashurst ve Dawson, 2023).

2.1.5. Patogenezi:

K. pneumoniae, pnömoni, sepsis, kan dolaşımı enfeksiyonları, menenjit, piyojenik karaciğer apseleri, idrar yolu enfeksiyonları (İYE) ve yaralar gibi çeşitli enfeksiyonlardan sorumlu önemli bir patojendir. *K. pneumoniae* Gram-negatif bakteriler arasında, yüksek mortalite oranına sahip bakteriyeminin başlıca etkenleri arasında yer alır (Kot ve ark., 2023). *K. pneumoniae*'nin önemi bakım ünitelerinde yayılma potansiyelinin yüksek olması ve kolaylıkla çoklu ilaç direnci (MDR) kazanma yeteneği nedeniyle daha da artmaktadır. *K. pneumoniae*'nin plazmid tarafından kodlanan GSBL aktivitesine sahip suşun ortaya çıkması sonucunda tedavilerde başarısızlık oluşmakta ve bunun sonucunda septisemi nedeniyle morbidite ve mortalite de artış ortaya çıkmaktadır (El Fertas-Aissani ve ark., 2013).

Bakım ünitelerinde yayılma potansiyelinin yüksek olması ve MDR özellik kazanma yeteneği nedeniyle *K. pneumoniae*'nin bulaşıcılığını daha da artmaktadır. En önemli Gram-negatif fırsatçı patojenler arasında *K. pneumoniae* kabul edilse de, bu bakterinin farklı hastalıklara neden olduğu mekanizmaya ait bilgi hala tam olarak belirlenmemiştir. Hastane ortamlarında özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler arasında antimikrobiyal ajanların kullanımına bağlı olarak, artan oranlarda, SHİE ve toplumsal enfeksiyonlara neden olan en önemli fırsatçı patojenlerden biri olarak *K. pneumoniae* kabul edilmektedir (El Fertas-Aissani ve ark., 2013). Fırsatçı bir patojen olan *K. pneumoniae*, çeşitli hastane ve toplum enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. Özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış ve kritik hastalarda CRKP neden olduğu enfeksiyonlar halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturarak yüksek ölüm oranlarıyla ilişkilendirilmiştir (Karampatakis ve ark., 2023).

K. pneumoniae solunum yollarını, ameliyat bölgelerini, özellikle idrar yollarını ve kan dolaşımını enfekte ederek zatüre ve sepsis gibi ciddi ağır seyreden hastalıklara sebep olabilir. Bu hastalıkların dışında piyojenik karaciğer apseleri, nekrotizan pnömoni ve endojen endoftalmi gibi enfeksiyonların da neden olmaktadır (Wyres ve ark., 2020).

Tüm Gram-negatif enfeksiyonların yaklaşık üçte birini oluşturan, hastaneyle ilişkili ve yaygın fırsatçı bir patojendir.

Cerrahi yara enfeksiyonları, pnömoni, sistit, endokardit ve septisemi gibi enfeksiyonlar dahil olmak üzere bağırsak dışı enfeksiyonlara neden olmaktadır (Podschun ve Ullmann, 1998).

K. pneumoniae enfeksiyonlarının çoğunlukla bağırsak yolunda kolonize olan bakterilerle benzer serotipler gösterdiği belirlenmiştir. Kolonize olan *K. pneumoniae* suşları ile enfeksiyon bölgelerinden elde edilen suşlar arasında ilişki en son yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır. Hastaların kolonizasyon şeklinde taşıdıkları suş ile enfekte oldukları suşun tüm genom diziliminin aynı olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmalarda genomik açıdan bakıldığında, nozokomiyal *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının önemli bir kaynağının gastrointestinal mikrobiyotanın olduğunu ve bunların %80'inin kendi kendine kolonize olan suşlardan kaynaklandığını belirlemiştir. Kolonizasyondan enfeksiyon oluşturma, altta yatan hastalıkların veya immünomodülatör tedavilerin sebep olduğu konakçı savunmasındaki bozulmayla oluşmaktadır (Chang ve ark., 2021).

Kolonizasyon ve enfeksiyon arasında ayrımı tespit etmede klinisyenler ve araştırmacılara her zaman zorlanmıştır. Bu durum müdahaleleri oldukça zorlaştırmaktadır. Kolonizasyonu enfeksiyondan ayırmada yardımcı olacak çeşitli faktörler vardır.

Bu faktörler şunları içerir:

1. Dolaşımdaki kan, *K. pneumoniae*'yi kolonize eden solunum, idrar ve sindirim yollarının aksine steril kalmaktadır. Kan dolaşımında *Klebsiella*'nın tespit edilmesi aktif bir enfeksiyonu işaret etmektedir.
2. Kolonizasyonu enfeksiyondan ayırt etmek için hastanın semptomları, klinik belirtileri, laboratuvar sonuçları ve görüntüleme sonuçları kullanılmalıdır. Örneğin, öksürüğü, balgam üretimi, hastanın ateşi, yüksek WBC'si ve akciğerde pnömoniye ilişkin görüntüleme kanıtları varsa *Klebsiella* solunum yolu enfeksiyonu tanısı konur.
3. Hastalarda diyabet, kalp hastalığı, KOAH, organ nakli gibi altta yatan hastalıklar veya yakın zamanda antimikrobiyal ilaç veya steroid kullanımı öyküsü varsa, pozitif kültürler alındığında *Klebsiella* enfeksiyonu düşünülmelidir.

Özetle, *K.pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonlar genellikle konakçıdaki kolonileşen bakterilerden kaynaklanır ve aktif enfeksiyonu kolonizasyondan ayırmak için hem klinik hem de bakteriyolojik faktörler dikkatle değerlendirilmelidir (Chang ve ark., 2021).

2.1.6. Antijen yapısı:

Klebsiella'larda polisakkarit yapıda O ve K antijenleri bulunmaktadır. Bu bakterilerin serotiplendirilmesi bu antijenlere göre yapılmıştır 80 den fazla K antijen farklılığı bulunmaktadır (Bilgehan, 2000; Bozkaya, 2005). *K.pneumoniae*'de dokuz ana O serotipi bulunmaktadır. Tüm *Klebsiella* enfeksiyonlarının neredeyse %80'inden O1, O2 ve O3 serotipleri sorumludur (Martin ve Bachman, 2018). K antijenleri, *K.pneumoniae* tarafından üretilen kapsüller polisakkaritlerdir. *K. pneumoniae* tarafından üretilen polisakkaritler geleneksel olarak türün serolojik teknikler kullanılarak tanımlanmasında kullanılırlar (Herridge ve ark., 2020).

2.1.7. Biyofilm oluşumu

K. pneumoniae'de biyofilm oluşumu önemli bir virülans özelliğidir. Mikroorganizmalar tarafından üretilen hücre dışı polimerik maddeler (EPS) aracılığıyla inert veya aktif yüzeylere bağlandığı polimerizasyon türüne biyofilm denir. Polisakkaritler, proteinler, nükleik asitler, lipitler ve hücre dışı DNA'a (eDNA) EPS yi oluşturmaktadır (Li ve Ni, 2023).

K.pneumoniae biyofilmlerinin polisakkaritleri mannoz, glikoz, bunların aminleri ve asetillenmiş benzerlerinden meydana gelir. Ortamın heterojenliğinden dolayı biyofilmlerdeki proteinlerin ekspresyonu farklıdır. Biyofilm oluşumu farklı suşlar arasında değişiklik gösterse de, ilk bağlanma, mikro koloni oluşumu, olgunlaşma ve dağılım dahil üzere biyofilm oluşum süreci benzerdir (Li ve Ni, 2023).

Kateterlerin ve diğer kalıcı cihazların iç yüzeylerinde oluşan *K. pneumoniae* biyofilmleri klinik açıdan en önemlidir. *K. pneumoniae* biyofilmleri özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda invaziv enfeksiyonların gelişmesine ve ayrıca solunum, gastrointestinal ve idrar yollarında kolonizasyona katkıda bulunabilir. *K.pneumoniae* biyofilmlerinin katı yüzeylerde gelişmesi, hücre yapışmasından, mikrokoloni oluşumuna, olgunlaşmaya ve serbest yaşayan hücrelerin dağılmasına kadar ilerleyerek oluşmaktadır (Johnson, 2008).

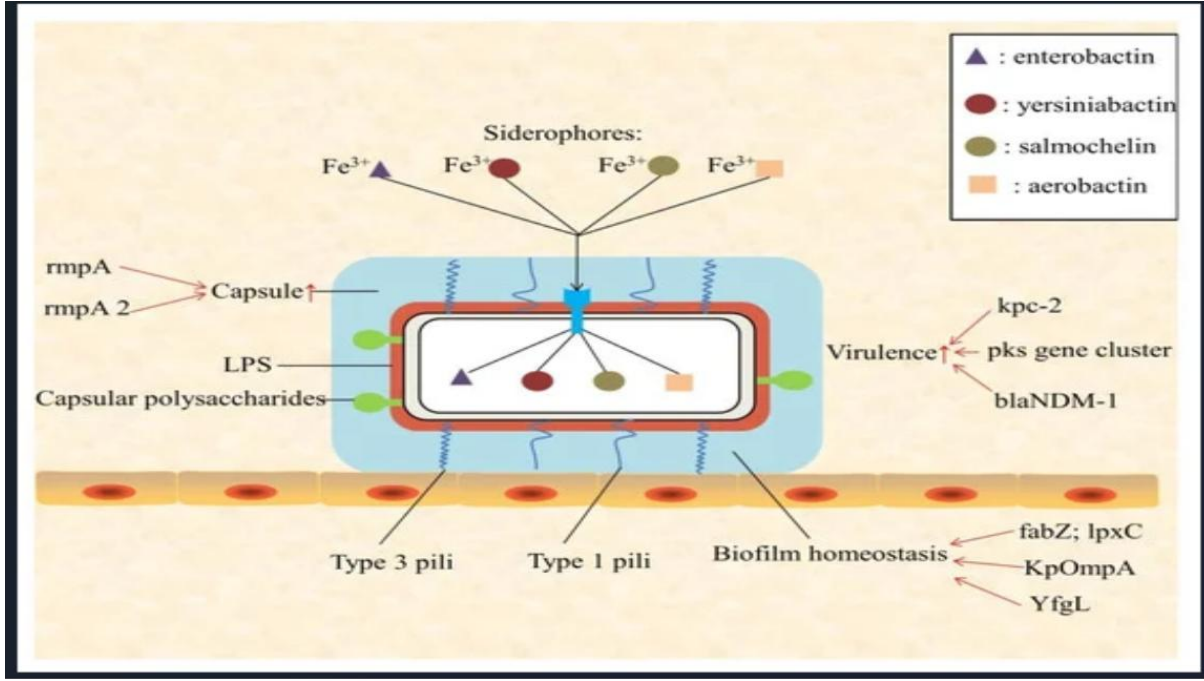
Biyofilm oluşumunda Tip 3 fimbria ve kapsül polisakkaritleri (KP) en önemli yüzey yapılarıdır. Hücreden hücreye iletişimi ve biyofilm mimarisini KP'ler sağlarken, fimbrialar stabil yapışmaya aracılık etmektedirler. Çevresel uyaranların değişkenliği ve biyofilm üretiminin dinamik süreci göz önüne alındığında, gömülü hücrelerin gen ifadesinde kapsamlı ve hızlı değişiklikler yapabilme yeteneğine sahip olması gerekir. Transkripsiyonel düzenleme, çekirdek algılamada olduğu gibi, bir mikroorganizma topluluğunda gen ifadesini koordine eden bir sinyal ve yanıt sistemi tarafından kontrol edilir (Piperaki ve ark., 2017).

K.pneumoniae'de varsayılan çoğunluk algılamayla ilişkili düzenleyiciler ve otoindüktörler tanımlanmıştır, ancak mevcut veriler hala eksiklikler vardır (Piperaki ve ark., 2017). Flagellar motilitede ve çeşitli kemotaksis ve çekirdek algılama sistemlerinde yer alan genlerin, birçok bakteri türünün biyofilm oluşturma yeteneğinin yanı sıra biyofilmlerin morfolojisini de etkilediği görülmektedir (Johnson, 2008).

Biyofilmler, yerleşik hücreleri kurumaya, kimyasal etkileşime ve diğer bakteriler tarafından istilaya karşı koruyabilir. Dahası, biyofilmler bakteri hücrelerinin insan fagositik sistemi tarafından öldürülmeye karşı direnç göstermesine de katkıda bulunur ve biyofilm topluluğunun ortam yüzeyine yapışmaya devam etmesini sağlar. Bakteriyel biyofilmin antimikrobiyal maddelere karşı direncinin planktonik bakterilere kıyasla 10 ila 1000 kat daha yüksek olabileceği tahmin edilmektedir (Li ve Ni, 2023).

K. pneumoniae daki biyofilm hücreleri bağışıklık savunmasından bakteriyi kısmen korumaktadır. Matris, antibakteriyel peptitlerin ve antikorların erişimini engeller. Fagositozun ve komplemanın etkinliğini azaltır (Piperaki ve ark., 2017).

Biyofilmlerin en önemli özelliği antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde direnç oluşturmasıdır. Bakterinin üreme durumu direnci belirleyen en önemli faktördür. Biyofilmin “iç çekirdeğinde” bakteriler düşük oksijene ve açlığa uyum sağladıkları için büyümeyi engeller. Bu da metabolik olarak aktif ve bölünen hücreleri hedef alan antibiyotiklerin etkinliğini azaltır (Piperaki ve ark., 2017).



Şekil2.2.Klebsiella pneumoniae virülans faktörleri ve biyofilm homeostazının şematik gösterimi (Wang ve ark., 2020).

2.1.8. Virülans faktörleri:

Virülans faktörleri *K. pneumoniae* de hem yardımcı genomlarda hem de çekirdek deki genler tarafından kodlanır. Bu genler, bir enfeksiyonun ciddiyetini ve dolayısıyla enfeksiyona neden olan türün virülans etkileyebilir. Bunun yanında belirli bir suşun patojenik potansiyelini tanımlayarak kolonileşen bir suşun enfeksiyonda ilerleme yeteneğini de etkileyebilir. *K. pneumoniae*'de virülans faktörlerini, kapsül, yapışkan fimbrialar, lipopolisakkarit (LPS) ve sideroforlar oluşturur. Allantoin kullanımı, akış pompaları diğer demir alım sistemleri, ve tip VI sekresyon sistemi sonradan virülans faktörleri olarak bildirilmiştir (Şekil 2.2.) (Karampatakis ve ark., 2023; Martin ve Bachman, 2018).

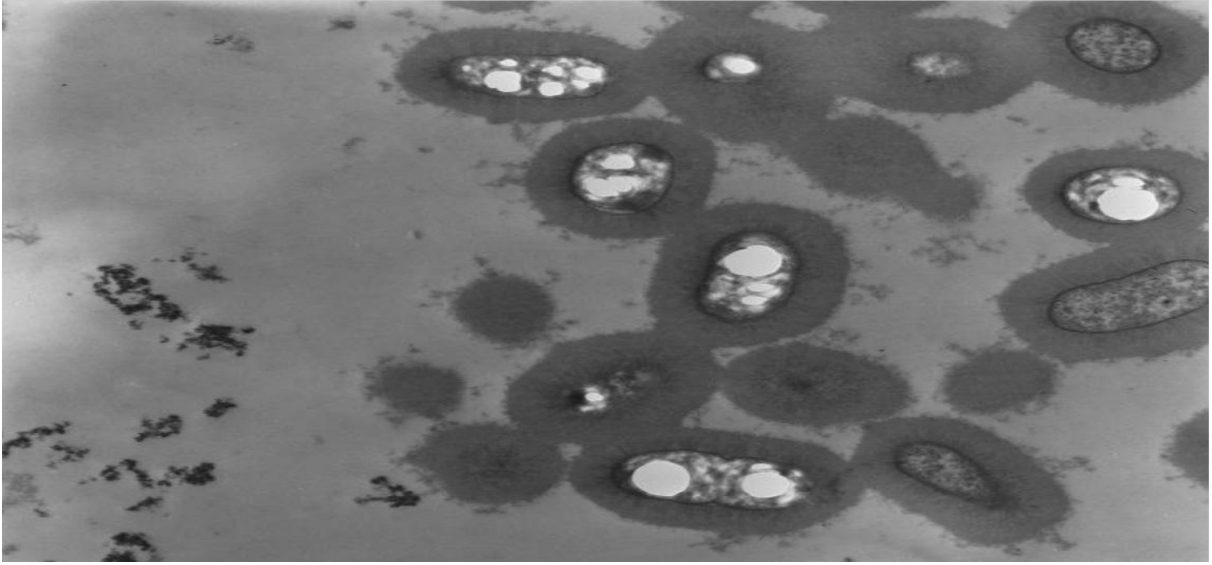
Kapsül:

K. pneumoniae'nin en önemli virülans faktörlerinden biri polisakkarit kapsüldür (Martin ve Bachman, 2018). Kapsül, kalın bir lifli yapı şeklinde bakteriyi çevreleyen, suşa özgü polisakkaritlerden oluşan hücre dışı bir matristir (Şekil 2.3.). Kapsamlı bir şekilde yapılan araştırmalarda kapsülün insan hastalıklarındaki rolü ve fagositik bağışıklık hücrelerine karşı koruma sağlayan, kompleman aracılı lizizi bloke eden ve proinflamatuvar sitokin düzeylerini azaltan bir savunma fonksiyonuna sahip bir yapı tesbit edilmiştir (Şekil 2.4.) *K. pneumoniae*'nin virülansının bir kapsülün varlığında büyük ölçüde arttığı farelerin akapsüler mutantlarla oluşturulan enfeksiyonunda belirlenmiştir (Herridge ve ark., 2020).

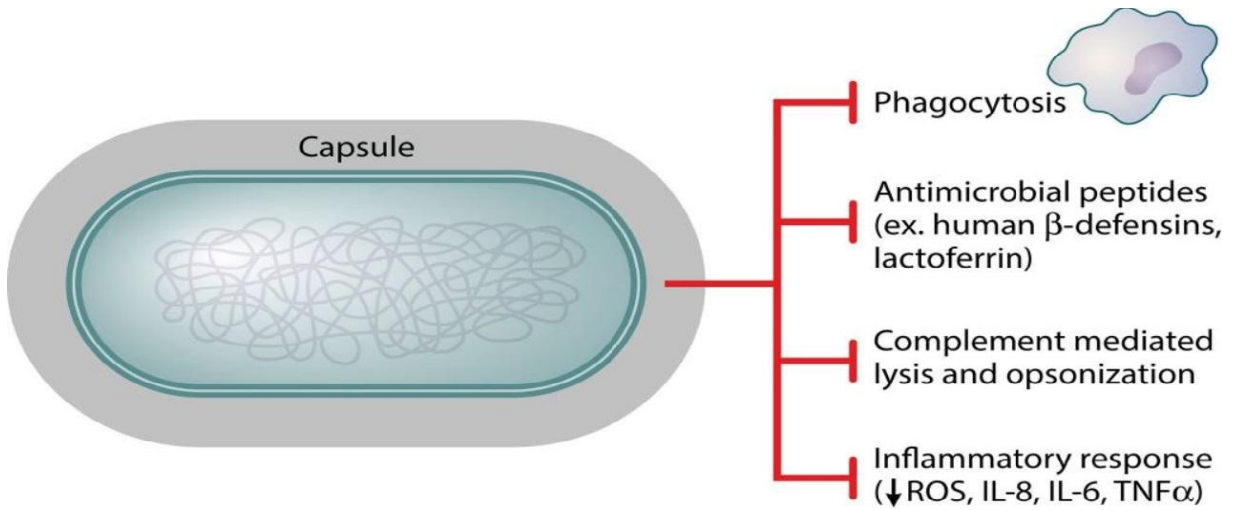
Polisakkarit kapsül *K. pneumoniae*'da, en dış katmanda bulunur ve konakçıyla etkileşime giren önemli bir virülans faktördür (Karampatakis ve ark., 2023).

Klebsiella'nın virülansı için kapsüller gereklidir. Kapsül materyali, bakteri yüzeyini masif tabakalar halinde kaplayan kalın lifli yapı demetleri tarafından oluşturulur. Bu kapsüller bakterinin polimorfonükleer granülositlerin fagositozundan korumaktadır (Podschun ve Ullmann, 1998). Kapsül polisakkaritleri, fagositoz direncine aracılık ederek patogeneze yardımcı olmaktadır. Bunların yanında faj saldırılarına karşı koruma sağlar. *Enterobacteriaceae* familyasının çoğunluğu kapsül üretebilmektedir ve bu özelliği septisemi, menenjit ve idrar yolu enfeksiyonu gibi bağırsak dışı enfeksiyonlarla ilişkilendirilmektedir. (Schembri ve ark., 2005). Esas olarak, enfeksiyon sırasında bakterileri opsonofagositozdan koruyarak bağışıklık sisteminden kaçmaya yardımcı olmak için kullanılır. *K. pneumoniae*'deki dış zara bağlı bakteri hücrenin dışında yer alan yapı kapsül'ü oluşturmaktadır. Kapsüller polisakkarit sentezi (cps) lokusu tarafından üretilmektedir. Serolojik testler sonucunda 77 kapsüller tip belirlenmiştir. Moleküler tekniklerdeki son gelişmeler, *K. pneumoniae* tiplerinin arasında ayırım yapılmasına ve tüm serotiplerde cps lokusunun tam sekanslanmasına yardımcı olmuştur. Cps lokusunun wzi genindeki alelik farklılıklarına dayalı olarak türleri tanımlayan wzi tiplemesinde görülmektedir. Bu yöntem sonucunda geleneksel serolojik K tiplerine karşılık gelen 135 farklı wzi tipi tanımlanmıştır (Martin ve Bachman, 2018).

Bu genlerin çoğu korunmuştur, ancak kapsül tipine bağlı olarak diğer cps genleri ve gen alelleri mevcut olabilir veya bulunmayabilir. Böylece kapsüller sentez, çekirdek ve aksesuar genlerin bir kombinasyonu ile gerçekleştirilir (Martin ve Bachman, 2018).



Şekil 2.3. Kalın lifli kapsüler malzeme katmanlarıyla çevrelenmiş *K. pneumoniae* hücrelerinin transmisyon elektron mikrofrafı(Podschun ve Ullmann, 1998).

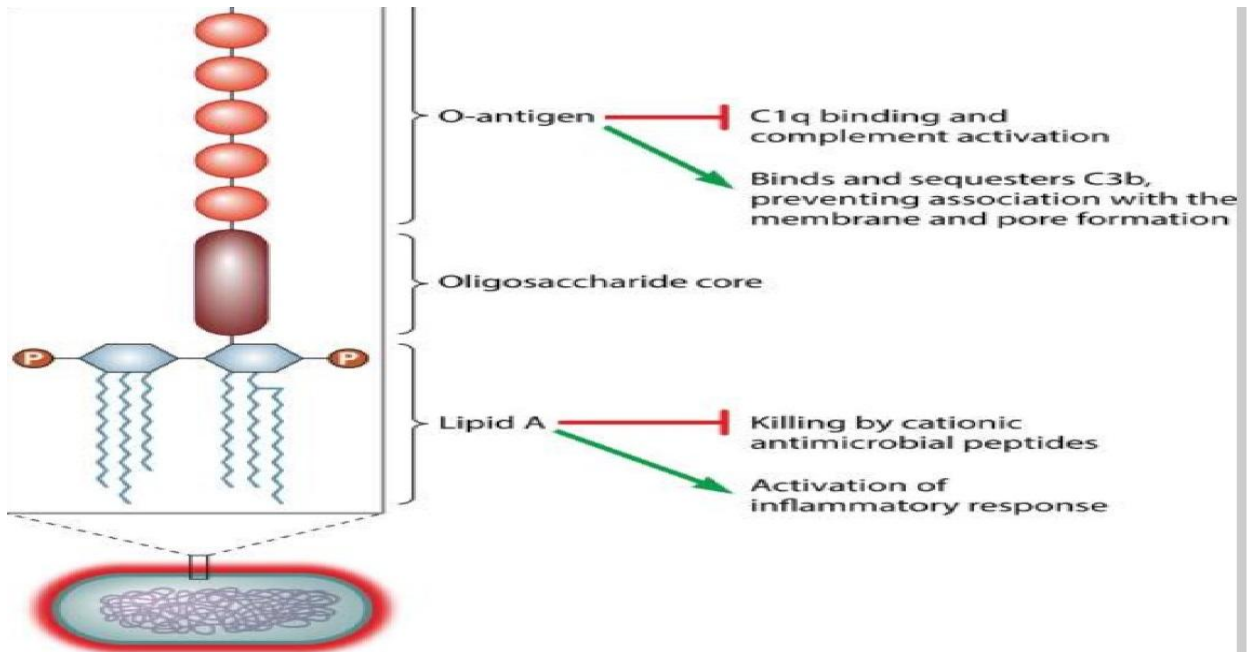


Şekil 2.4. *K. pneumoniae* virülansında kapsülün rolü (Paczosa ve Mecsas, 2016).

Lipopolisakkarit (LPS):

Gram-negatif bakterilerin dış zarını süsleyen önemli bir bileşen olan lipopolisakkarit (LPS) endotoksin olarak da adlandırılır. LPS, lipit A, bir O antijeni ve bir oligosakkarit çekirdeğinden oluşur ve bakteriyel membrandan çıkıntı oluşturur (Şekil 2.5.). O antijen yapılarındaki varyasyonlar çeşitli O serotipleri sağlar. Humoral savunmalara karşı koruma sağlayan LPS, enfeksiyon sırasında *K. pneumoniae* için önemli bir virülans faktörü olarak avantaj sağladığı gibi, hem de güçlü bir bağışıklık aktivatörüdür (Paczosa ve Mecsas,2016).

Bakteriyel LPS'nin lipit kısmı olan lipit A'nın, bir model tanıma reseptörü olan TLR4'ün güçlü bir ligantını oluşturmaktadır. TLR4 uyarımı, *K. pneumoniae* enfeksiyonunu engelleyen ve diğer dokulara yayılmasını kontrol eden nötrofiller ve makrofajlar dahil olmak üzere hücrel yanıtın etkinleştirilmesine yardımcı olan sitokinlerin ve kemokinlerin üretimine sebep olur (Paczosa ve Meccas,2016). LPS'nin *K.pneumoniae* enfeksiyonundaki birincil rolü, kompleman bileşeni C3b'nin bakteriyel membrandan uzağa bağlanması yoluyla bakteriyel hücrelerin kompleman aracılı lizisine karşı koruma sağlamak ve membran saldırı kompleksi C5b-9'un oluşumunu engellemektir. Bu, LPS'nin O antijeni tarafından gerçekleştirilir. Bu antijen olmaması *K. pneumoniae*'yi kompleman aracılı bakteriyel lizise karşı daha duyarlı hale getirir. Bakterilerin neden olduğu septik şokun en güçlü aracısı olarak kabul edilmektedir. LPS'nin konakçı tarafından Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) yoluyla algılanması, inflamatuara yol açar. Sepsis ve septik şokun yıkıcı patogeneziye yol açan durum, LPS'nin kendisinden ziyade bu konak tepkisidir. *K. pneumoniae* izolatlarında kısaltılmış veya O antijeni bulunmayan (kaba LPS) serum komplemanına duyarlı iken, tam uzunlukta O-antijeni (pürüzsüz LPS) olan izolatlar serum komplemanına dirençlidir. Bakterilerin polimiksin antibiyotikleri de dahil olmak üzere antimikrobiyal peptitlerden korunmasında LPS'deki değişiklikler rol oynayabilir. LPS *K. pneumoniae*'nin dış zarının birincil bileşenidir ve çekirdek genomun bir parçası olarak kabul edilir (Martin ve Bachman, 2018 ; Herridge ve ark., 2020).



Şekil 2.5. *K. pneumoniae* virülansında lipopolisakkaritin rolü(Paczosa ve Meccas, 2016).

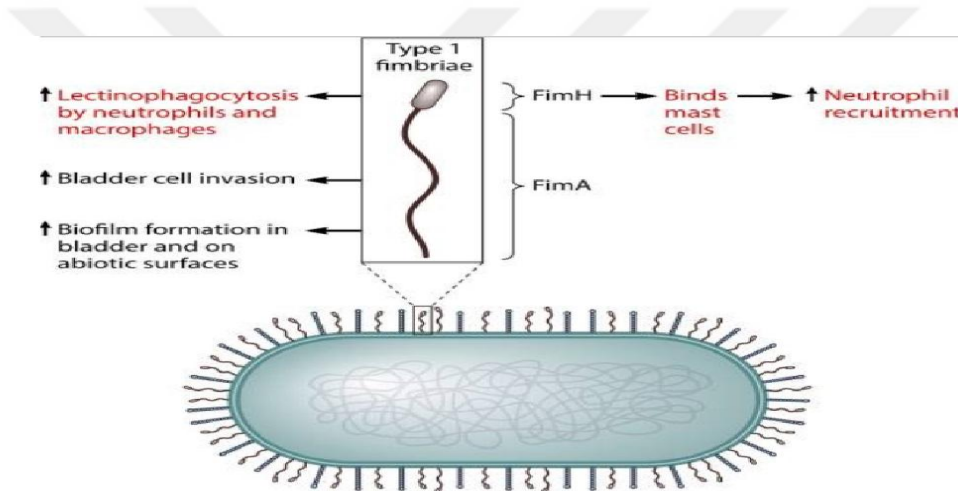
Pili (*Fimbriae*):

Bakteri yüzeyindeki 10 µm uzunluğa ve 1 ila 11 nm çapa sahip, moleküler kütlesi 15 ila 26 kDa olan polimerik küresel protein alt birimlerinden oluşan flagellar olmayan filamentli çıkıntılara pili (fimbria) denir (Podschun ve Ullmann, 1998). Enfeksiyonun gelişmesinde bakterilerin konakçının mukozal yüzeylerine yapışması genellikle önemli bir adım olarak kabul edilir. Gram-negatif bakterilerde bakteri hücrelerinin yüzeyinde genellikle yapışmaya filamentli organeller olan fimbrialar tutunmaya aracılık eder (Struve ve ark., 2008).

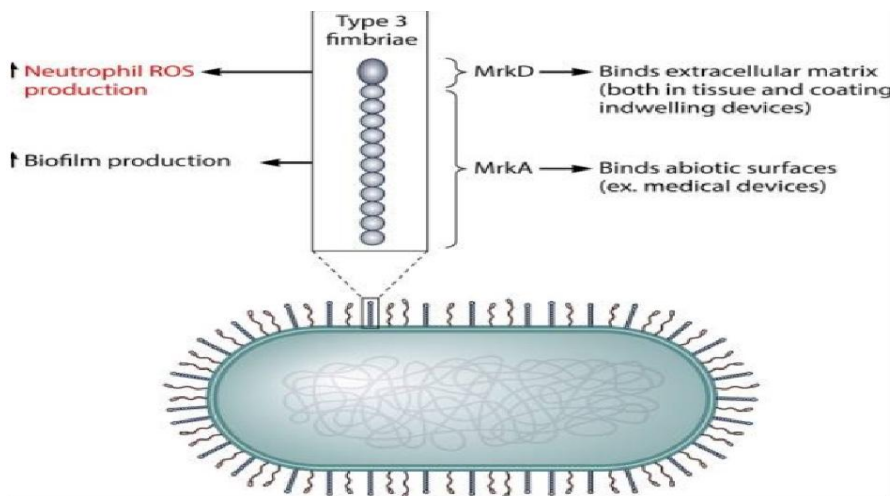
K. pneumoniae'de, klinik izolatların yüzeylerinde iyi karakterize edilmiş, iki fimbrial adezin, tip 1 ve tip 3 fimbria, sıklıkla tespit edilir. *Enterobacteriaceae* ailesindeki birçok bakteride bulunan ve en iyi karakterize edilen fimbrial adezinlerden biri tip 1 fimbriyalardır. Bu fimbrialar, saçak yapısı ve düzeni için gereken tüm genleri içeren bir gen kümesi (*fim*) üzerinde kodlanır. Fimbria eklentisi, fimbrianın ucunda konakçı hücreler üzerindeki mannoz içeren glikokonjugatlara yapışmayı sağlayan bir adezin molekülü (FimH) ile tekrarlanan FimA alt birimlerinden meydana gelir (Şekil 2.6.) (Murphy ve ark., 2013). *K.pneumoniae*'da tip 1 fimbria genleri idrar yolunda eksprese edilir. Gastrointestinal sistem veya akciğerlerde tip 1 fimbria genleri eksprese edilmez. Bu durum *K. pneumoniae* tip 1 fimbriae'nin İYE'lere katkıda bulunduğunu gösterir (Paczosa ve Mecsas,2016).

Özellikle tip 1 fimbrialar, bir fare model sisteminde mesane hücrelerinin *K. pneumoniae* tarafından istilasına ve idrar yolu enfeksiyonu sırasında mesanede biyofilm oluşumuna katkı sağlar ancak erken kolonizasyon için gerekli değildir. Gastrointestinal sistem ve akciğerlerde *K. pneumoniae* tarafından gastrointestinal sistem kolonizasyonu sırasında ve *K. pneumoniae*'nin neden olduğu pnömoni sırasında tip 1 fimbriaların ekspresyonuna gerek yoktur (Paczosa ve Mecsas,2016). Tip 3 fimbrialar hem klinik hem de çevresel *Klebsiella* izolatları tarafından eksprese edilir. İnsan endotel ve mesane hücreleri, tripsinli yanak hücreleri, trakea hücreleri ve solunum dokusu gibi çeşitli hücre tiplerine yapışmayı sağlarlar (Di Martino ve ark., 2003). Tip 3 fimbrialar sarmal benzeri filamentlerdir. Tip 3 fimbrialar *K.pneumoniae*'de *mrkABCD* gen kümesi tarafından kodlanır. Yapının büyük kısmı MrkA alt birimlerinden meydana gelir ve adezin MrkD uçta bulunur (Şekil 2.7.). MrkB, -C ve -E ifadenin toplanması ve düzenlenmesinde görev alırken, MrkF fimbriaların yüzey stabilitesinde rol oynar. Tip 1 fimbrialara benzer bir şekilde, tip 3 fimbria kodlayan operon neredeyse tüm *K. pneumoniae* izolatlarında yer alır ve bunlar tarafından ifade edilir. Tip 1 fimbriaların aksine tip 3 fimbrialar mannoz bağlamazlar (Paczosa ve Mecsas,2016).

Tip 3 fimbrialar için spesifik bir hücre yüzeyi reseptörü henüz tespit edilmemiş olsa da, bunların tip IV ve V kollajenler gibi hücre dışı matriks proteinlerine bağlandıkları bildirilmiştir. Muhtemelen, klinik olarak fimbriaların anlamlı en önemli rolleri arasında biyofilm oluşumu ve abiyotik yüzeylere bağlanmayı söyleyebiliriz. *K. pneumoniae'nin* kalıcı kateterler veya diğer cihazlar gibi yüzeylere bağlanma yeteneği, ona hassas bölgelere yapışma yeteneği sağlar. Ventilatör ilişkili pnemoni (VİP) lerde Tip 3 ve muhtemelen tip 1 fimbrialar da *K. pneumoniae'nin* taşınmasına, girişine ve kalıcılığına destek sağlayabilir. Hastaların nefes almasını kolaylaştırmak için yaygın olarak kullanılan endotrakeal tüpler, bakterilerin akciğerlere erişmesini sağlar, hastanın mukosilyer klirensini engeller, yerleştirildiğinde konakçı dokulara zarar verir ve biyofilm için bir yüzey ortamı oluşturur (Paczosa ve Mecsas,2016).



Şekil 2.6. *K. pneumoniae* virülansında tip 1Fimbriae(Paczosa ve Mecsas, 2016).



Şekil 2.7. *K. pneumoniae* virülansında tip 3Fimbriae(Paczosa ve Mecsas, 2016).

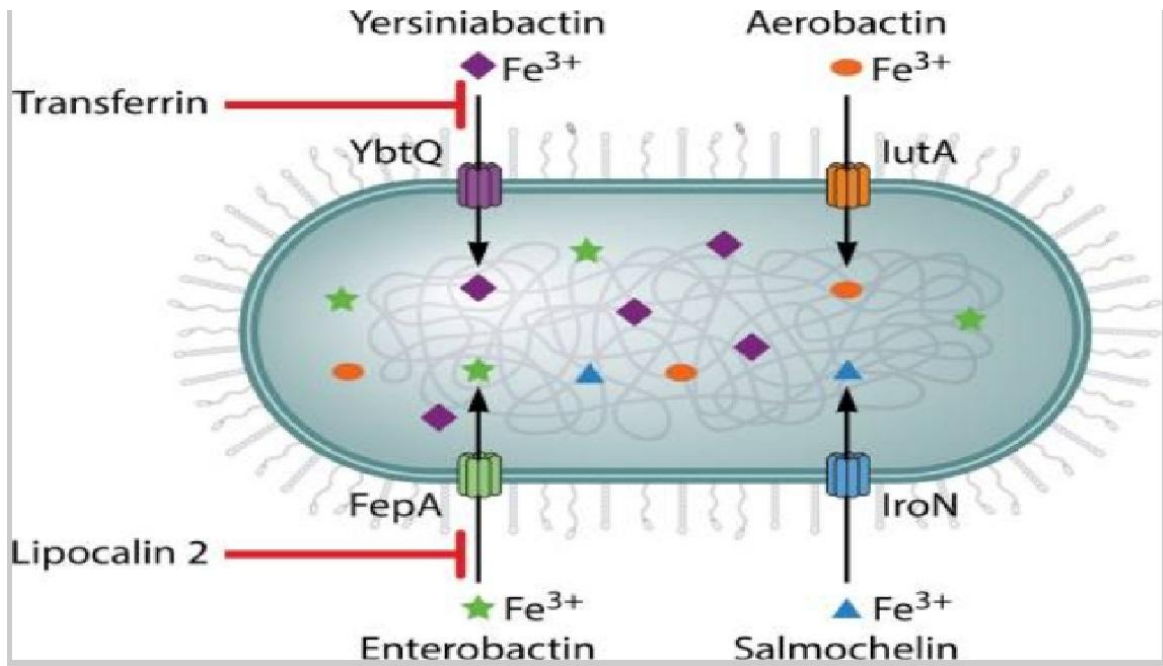
Sideroforlar :

İlk olarak 1950'lerde, mikobaktinin *Mycobacterium johnei* için bir büyüme faktörü olarak tanımlanmasıyla sideroforlar keşfedilmiştir. Günümüze kadar 500'den fazla farklı siderofor tanımlanmıştır. Ferrik demir için yüksek afiniteye sahip olan sideroforlar genellikle molekül ağırlığı 500-1500 dalton arasında olan küçük moleküllerdir. Patojenlerde önemli virülans faktörleri olan birçok siderofor, özellikle yatay gen transferi yoluyla siderofor sentez sistemlerinin edinilmesi nedeniyle birden fazla sideroforu kodlar. Aslında, siderofor üretemeyen veya salgılayamayan suşların enfeksiyon ve kolonizasyon sırasında virülansı ve kondisyonu azalmışken, sideroforları fazla üretebilen suşların hipervirulent olduğu kabul edilir (Holden ve Bachman, 2015). *K. pneumoniae* da dahil olmak üzere birçok patojen demir elde etmek için sideroforları kullanılır. Sideroforlar, demiralımı için konakçı taşıma proteinlerinden daha yüksek afiniteye sahip olan moleküllerdir. Sideroforlar, demiri konakçının demir şelatlayıcı proteinlerinden alabilir veya çevreden temizleyebilir. Yüksek afiniteli ferrik demir şelatörleri olarak sideroforlar, küçük molekülü bileşikleri kullanan bir mekik mekanizmasına dayanır. Siderofora bağımlı demir elde etme yolları, geniş bir prokaryotik ve ökaryotik mikrop yelpazesi arasında bulunabilir ve ilgili bileşenlerin yapısı ve işlevi açısından yüksek çeşitlilik gösterir. Ortak amaç, demir açlığı dönemlerinde hücreler tarafından bir veya daha fazla sideroforun üretilmesidir (Miethke ve Marahiel, 2007).

Enterobacteriaceae arasında yaygın olan üç siderofor sistemi vardır. Bunlar: enterobactin, aerobactin ve yersiniabactin (Şekil 2.8.). Bir katekolat siderofor olan enterobaktin (enterochelin olarak da bilinir), ilk karakterize edilen bakteriyel sideroforlar arasında bulunan ve incelenen enterobakteriyel izolatların %90'ından fazlası tarafından üretilir (Lawlor ve ark., 2007). Demiri olağanüstü derecede yüksek afiniteyle bağlayan enterobaktin, bir trisiklik 2,3-dihidroksibenzoilserin (DHBS) molekülüdür ve birçok Gram-negatif enterik bakteri tarafından üretilir. Bu molekülün doğrusallaştırılmış bir formu olan enterobactin ve monomerik ve dimerik DHBS öncüllerinin tümü, sideroforlar olarak görev yapabilir. Enterobactin, mikroplar tarafından yaygın olarak kullanılmasına ve oldukça etkili bir demir elde etme aracı olmasına rağmen enterobactinin virülanstaki rolü belirsizdir (Smith, 2007).

Bir hidroksamat siderofor olan aerobaktin, enterobaktin suşlarının daha küçük bir kısmı tarafından üretilen ve serbest Fe^{3+} için enterobactin veya yersiniabaktine göre daha düşük afiniteye sahiptir (Lawlor ve ark., 2007).

Fenolat siderofor yersiniabaktin daha da az izolat arasında bulunur. Yersiniabaktin siderofor sistemi ilk olarak *Yersinia* türleri için tanımlanmış ve karakterize edilmiştir, ancak diğer enterobakteriyel türlerin bazı izolatlarında da bulunabilir ve yatay gen transferi yoluyla elde edildiği düşünülmektedir. Patojenik *Yersinia*'nın neden olduğu yaygın hastalık ve ölümlerin çoğundan sorumlu olan yüksek patojenite adasında *Yersinia* izolatlarındaki yersiniabaktin lokusu, bulunur (Lawlor ve ark., 2007). Muhtemelen salisilattan türetilen bir fenolik grubun yanı sıra üç sistein kalıntısının yoğunlaşmasından türetilen bir tiazolidin ve iki tiazolin halkası Yersiniabaktin molekülünü oluşturur (Carniel, 2001).



Şekil 2.8.K. *pneumoniae* virülansında sideroforlar (Paczosa ve Meccas, 2016).

Akış pompaları:

Bakterilerde her yerde bulunan transmembran proteinleridir; bunlar, birden fazla farklı antimikrobiyal madde sınıfı da dahil olmak üzere çok çeşitli zararlı maddeleri bakteri hücresinin içinden dış ortama taşıyabilir ve bu nedenle MDR de önemli bir mekanizma olarak görev yapar (Martin ve Bachman, 2018; Tang ve ark., 2020).

Bakteri hücrelerinden antibiyotikleri dışarı atma yeteneklerinden dolayı sıklıkla *K. pneumoniae*'de antibiyotik direnciyle ilişkilendirilmiştir. Diğer bakterilerde akış pompalarının, konakçının doğuştan gelen bağışıklık sisteminin önemli bir yönü olan konakçıdan türetilen antimikrobiyal peptitlere karşı dirence aracılık ettiği gösterilmiştir (Martin ve Bachman, 2018; Tang ve ark., 2020).

Bu mekanizmanın *K. pneumoniae*'nin virülansında da benzer bir rol oynaması düşünülmektedir. Antimikrobiyal dirençte yer alan akış sistemleri arasında direnç-nodülasyon-bölünmesi (RND), ATP bağlayıcı kaset (ABC), ana kolaylaştırıcı süper ailesi (MFS), küçük çoklu antibiyotik direnci (SMR) ve çoklu ilaç ve toksik bileşik ekstrüzyon (MATE) ailesi/üst ailesi yer alır. Akış pompaları AcrA ve OqxA, RND ailesine aitken, QacE'nin bir silme formu olan QacEΔ1 ve EmrB, sırasıyla SMR ve MFS ailesine aittir. Çalışmalar, AcrAB ve OqxAB'nin yüksek ekspresyonunun, *K. pneumoniae*'nin MDR'yide artırabildiğini göstermiştir, ancak *K. pneumoniae*'de EmrB ve QacEΔ1 hakkında çok az çalışma yapılmıştır. Dört tip bakteriyel akış pompası inhibitörü vardır. Güçlü bir ayırma maddesi olan karbonil siyanür-klorofenilhidrazin (CCCP) gibi enerji kaynakları blokleri, transmembran elektrokimyasal gradyanı yok ederek ve kimyasal sentez kaynağını baskılayarak akış pompasının hareketini engelleyebilir (Martin ve Bachman, 2018; Tang ve ark., 2020).

Salgı sistemleri:

Salgı sistemleri Gram-negatif patojenlerde, bakteriyel uygunlukta rol oynar. İlk olarak *Vibrio cholerae*'de hücre dışı bir protein translokasyon sistemi olarak Tip VI salgı sistemi (T6SS) tanımlanmıştır. T6SS çeşitli efektör molekülleri ve toksinleri diğer hücrelere enjekte etmeyi sağlayan, bakteriyel hücre zarı içine sabitlenmiş şırıngaya benzeyen bir aparatır. *Bacteroidetes* ve *Proteobakteriler*'de, özellikle de *Enterobacteriaceae*'de büyük ölçüde tespit edilmiştir. Yapısal ve fonksiyonel olarak bakteriyofajların kasılma kuyruğuna bağlı moleküler bir şırıngadan meydana gelir (Merciecca ve ark., 2022 ; Martin ve Bachman, 2018).

T6SS barındıran bakteriler, doğrudan temas yoluyla bitişik hücrelere toksik efektörler enjekte edebilir ve bu da avların ölümüne neden olabilir (Merciecca ve ark., 2022 ; Martin ve Bachman, 2018).

Etki biçimlerine göre farklı tipte efektörler, DNAz, fosfolipaz, glikozit ve hidrolaz tanımlanmıştır. T6SS taşıyan bakterilerin her toksik efektörünün, kendi kendine zehirlenmesini önleyen ve eşleştirilmiş bir toksin-antitoksin sistemi olarak hareket eden ilişkili bir bağışıklık proteini bulunur. Bakterilerde T6SS'nin varlığı, konak bağırsak mikrobiyotası gibi oldukça rekabetçi ortamlarda bir avantaj sağlar (Merciecca ve ark., 2022 ; Martin ve Bachman, 2018).

2011 yılında *K.pneumoniae* türlerinde T6SS'nin ilk kanıtı Sarris ve arkadaşları tarafından belirlenmiştir. *K. pneumoniae* genomlarının biyoenformatik analizi, sayı ve gen içeriği çeşitlilik gösterse de, suş başına 3'e kadar lokus içeren T6SS gen kümelerinin varlığı tanımlanmıştır. T6SS salgılama sistemlerinin hem çekirdek hem de yardımcı genomda mevcut olduğu, kolonizasyon bölgelerinde diğer bakterilerle rekabeti desteklediği ve enfeksiyon bölgelerinde uygunluğu arttırdığı görülmektedir. Son zamanlarda, *K. pneumoniae*'nin 107 tam dizilenmiş genomunun analizi, 254 T6SS ile ilişkili küme tanımladı ve bunların varlığı hipervirülan fenotip ile pozitif korelasyon göstermektedir. SH1 pnömoneye neden olan *K. pneumoniae* de T6SS dizi tipi 258'in (ST258) genomunda dünya çapında korunmuştur (Merciecca ve ark., 2022 ; Martin ve Bachman, 2018).

Günümüze kadar elde edilen verilerin çoğu hvKp izolatları ile elde edilmiştir ve cKp suşlarında T6SS'nin yaygınlığı ve işlevi, suşların bağırsak yolunu kolonize edebilme yeteneğine sahip olmasına rağmen tam olarak araştırılmamıştır (Merciecca ve ark., 2022; Martin ve Bachman, 2018).

2.1.9. Antibiyotik direnci:

1980'lerden sonra giderek artış gösteren antibiyotiklere direnç nedeniyle *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavisi, büyük sorun hâline gelmeye başlamıştır (Telli, 2022). Çeşitli çalışmalarda *Klebsiella* türlerinde daha yüksek antibiyotiklere karşı artan bir direnç insidansı olduğu belirtilmiştir. Antibiyotiklerin akılcı olmayan kullanımı sonucu bu yaygın direnç, gelişmiştir (Sharma ve ark., 2023).

Klebsiella türünün birçok farklı antimikrobiyal direnç (AMR) plazmidi ile uyumlu olduğu ve bunun sonucunda bu bakterilerin ilaç direnci geliştirmesini kolaylaştırdığı bilinmektedir (Sharma ve ark., 2023).

K. pneumoniae izolatlarında, dünya çapında GSBL ve karbapenemaz genleri gibi antibiyotik dirençli genlerin ortaya çıkması ve yayılması halk sağlığını ciddi şekilde etkilemektedir. Bunun nedeni, uzun zamandır karbapenemlerin çoklu ilaca dirençli Gram-negatif bakterilerin neden olduğu hastalıkları ve enfeksiyonları tedavi etmek için son tedavi seçeneği olarak düşünülmesi ve bu ilaç sınıfının aşırı ve yanlış kullanılmasıdır (Sharma ve ark., 2023).

K. pneumoniae'nin tedavisinde ilk tercih edilen antibiyotikler sefalosporinler, aminoglikozidler ve kinolonlar olmasına rağmen bu antibiyotiklere karşı gelişen direnç ampirik tedavide yetersizliklere ve hasta mortalite ve morbiditesinde artışa neden olmaktadır. SHİE'ların tedavisinde de *K. pneumoniae*'ye karşı gelişen antibiyotik direnci önemli ölçüde tedavi sorunlarına yol açmaktadır. Çok ilaca dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının da tedavi seçeneklerinden en önemlisi yine karbapenem grubu antibiyotikleridir (Telli, 2022). *K. pneumoniae*'nin antibiyotik direnci geliştirme potansiyeli çok yüksektir ve küresel ölümlerin üçüncü önde gelen sebebidir (Mason ve ark., 2023). *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavisini zorlaştıran, GSBL'ler ve *K. pneumoniae* karbapenemazlarını (KPC'ler) kodlayan suşların yakın zamanda ortaya çıkmasıdır. Yüksek ölüm oranları ve hızlı yayılma potansiyelleri nedeniyle, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC), karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*'yi (CRE) halk sağlığına yönelik acil bir tehdit olarak ilan etmiştir (Martin ve ark., 2016).

K. pneumoniae izolatları GSBL'ler üretilebilir ve direnç gelişebilir. Çok sayıda enfeksiyon salgınına neden olmuş olan, GSBL üreten *K. pneumoniae* türleri günümüzde dünyanın her yerinden bildirilmektedir.

GSBL üreten *K. pneumoniae*'nin neden olduğu ciddi enfeksiyon için ilk olarak tedavide karbapenemler kullanılmaktadır. İlk olarak KPC üreten *K. pneumoniae* izolatı 1996 yılında Kuzey Carolina'da bildirilmiştir (Xu ve ark., 2017).

Tüm dünyada KDKp suşları endişe verici bir durum oluşturmaktadır. 2010 yılından sonra ülkemizde görülmeye başlayan karbapenem dirençli enterik bakteriler, 2014 ve 2015 yıllarından sonra endemik hâle gelmiştir (Telli, 2022).

1983 yılında *K. pneumoniae* enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan ilk karbapenem imipenem idi ve 2 yıl sonra imipenem dirençli suşlar tespit edildi. 1991'den itibaren Japonya'da *K. pneumoniae*'de tespit edilen IMP-1 metallo-enzimi en erken tespit edilen karbapenemazdır (Navon-Venezia ve ark., 2017). Amerika Birleşik Devletleri'nde 1996'da, ilk *K. pneumoniae* karbapenemazı (KPC) ortaya çıkmıştır. *K. pneumoniae*'de en yaygın ve en etkili karbapenemazların *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1}, *bla*_{KPC}'nin olduğubelirtilmektedir (Navon-Venezia ve ark., 2017).

Tüm kıtalarda *Bla*_{KPC} taşıyan suşlar tanımlanmış olup, en yaygın genler *bla*_{KPC-2} ve *bla*_{KPC-3} dür. Birçok ülkede hastane salgınlarına karışan suşlarda oldukça yaygındır. Bu genlerin yayılmasının temel sebebi, ilk olarak ABD'de raporlanmasından bu yana dünyanın çeşitli yerlerinde endemik hale gelen *K. pneumoniae* ST258'in klonal genişlemesidir. *bla*_{KPC} genleri klonal yayılmanın yanı sıra benzersiz bir Tn 4401 transpozon varyantında bulunur ve çeşitli replikon tiplerinin plazmidlerine eklenir bunun sonucunda bakterinin diğer bakteri türlerinde yayılması kolaylaşır (Navon-Venezia ve ark., 2017).

Dünya çapında insanları etkileyen karbapenem dirençli *K. pneumoniae* (Cr-KPN), düşük, orta ve yüksek gelirli ülkelerde yaygın olan, bir patojendir. İki temel mekanizma aracılığıyla karbapenem direnci gerçekleşir. Birinci mekanizma Cr-KPN, hücre duvarındaki azalmış membran geçirgenliğiyle birlikte AmpC sefalosporinaz veya ESBL gibi sefalosporinleri hidrolize etme yeteneğine sahip β -laktamazlar üretilmesiyle oluşur. İkinci mekanizma, karbapenemler de dahil olmak üzere çoğu β -laktam antibiyotiği hidrolize edebilen bir β -laktamazın üretilmesiyle oluşur. Ambler sınıflandırmasına göre, A sınıfı (*K.pneumoniae* karbapenemaz, KPC), B sınıfı veya metallo- β -laktamazlar (MBL) (Yeni Delhi metallo- β -laktamazları, NDM) ve D sınıfı (OXA-48 benzeri karbapenemazlar) olarak sınıflandırılır (Reyes ve ark., 2019).

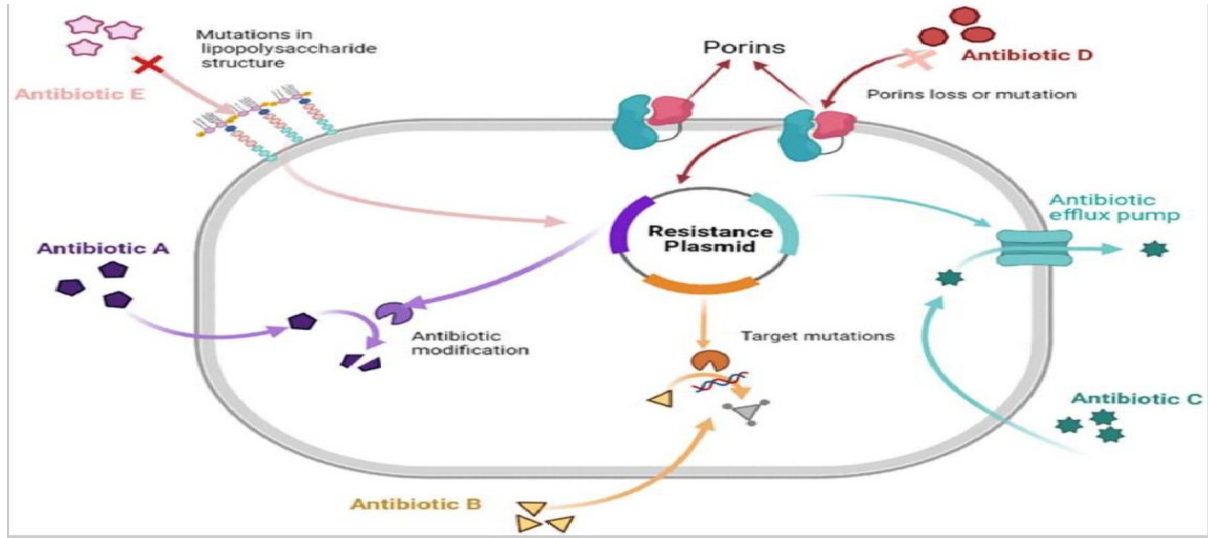
2009 yılında *K. pneumoniae* ve *Escherichia coli*'den NDM karbapenemaz, bildirilmiştir. MBL'nin diğer üyelerinde olduğu gibi, β -laktam antibiyotiklerin hidrolizi için çinkoya ihtiyaç vardır. Aktiviteleri şelat oluşturucu madde olarak etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) tarafından durdurulabilir. Klonal genişleme ve artan direnci teşvik eden hareketli genetik elemanların (MGE'ler) değişimi için KPC üreticisi *K. pneumoniae* (KPC-Kp), yüksek kapasiteye sahip bir patojendir. KPC-Kp, direnç oluşturma kapasitesine göre insan rezervuarlarında da kalabilir ve hastane dezenfeksiyon protokollerinden koruma sağlayan biyofilmler meydana getirebilir (Reyes ve ark., 2019).

Genellikle *K. pneumoniae*'yi tedavi etmek için aminoglikozidler ve sefalosporinler gibi antibiyotikler kullanılır. Hastanın sağlık durumuna, tıbbi geçmişine ve hastalığın şiddetine göre antimikrobiyal ajan seçimi uygulanır. Çok ilaca dirençli *Klebsiella* türlerinin neden olduğu İYE için amikasin ve meropenem kombinasyonu önerilmiştir (Li ve ark., 2023).

Tayvan'da diyabetli hastalarda *Klebsiella* enfeksiyonları karaciğer fistüllerine neden olmuştur ve tedavi için üçüncü nesil karbapenemler kullanılmıştır. Klinik ortamlardaki hastalar da, çok ilaca dirençli *K. pneumoniae*'deki gelişen AMR, tedavi seçeneklerini kısıtlayan önemli bir halk sağlığı endişesi oluşturmuştur. Kombinasyon tedavisi ve monoterapi alan bireyler karşılaştırıldığında, kombinasyon tedavisinin daha başarılı olduğu görülmüştür. Kombinasyon tedavisi antibiyotiklerin farmakodinamik öldürme aktivitesini artırdığından ve birden fazla etki mekanizmasının eş zamanlı kullanımı sonucu direncin ortaya çıkmasını geciktirebilir. *K. pneumoniae*'de AMR derecesinin artması ve KDKp 'nin görülme sıklığındaki artış nedeniyle karbapenemler, tetrasiklinler, polimiksinler ve fosfomisin ile kombinasyon tedavisi önerilmekte ve sıklıkla kullanılmaktadır (Li ve ark., 2023).

K. pneumoniae, karbapenemler, sefalosporinler, aminoglikozitler ve fosfomisin gibi ana antibiyotik sınıflarına karşı direnç gösterir ve bu ajanların tedavide başarısızlığına neden olur. *K. pneumoniae*'de antibiyotik direncin artması, patojene karşı geleneksel tedavilerin etkinliğinin azalmasına neden olmuştur. Direnç, artan eflüks, ilaç inaktivasyonu veya hedef bölgeye değişen bağlanma nedeniyle meydana gelebilir. Birçok *K. pneumoniae* suşu GSBL üretir veya biyofilmler oluşturarak direnci daha da artırır (Li ve ark., 2023).

K. pneumoniae'nin antibiyotik direnci esas olarak aşağıdaki beş yolla oluşur: (1) enzimatik antibiyotik inaktivasyonu ve modifikasyonu, (2) antibiyotik hedef değişikliği, (3) porin kaybı ve mutasyonu, (4) antibiyotiğin eflüks pompası ekspresyonunun artması ve (5) biyofilm oluşumu (Şekil 2.9.)(Li ve ark., 2023).



Şekil 2.9.K. pneumoniae'ye antibiyotik direnç kazandıran çeşitli mekanizmalar (Li ve ark., 2023).

2.2. Beta-laktam Antibiyotikler

Bakterisid olmaları ve yan etkilerinin az olmasından dolayı günümüzde en sık kullanılan antibiyotikler olan Beta-laktam(β -Laktam) antibiyotiklerdir. Bu antibiyotikler bakterilerin peptidoglikan tabakasının sentezini bozarak etki ederler. Bakteride hücre duvar yapısı bozulduğunda ozmotik direnç kaybı ve ölüm meydana gelmektedir (Yılmaz ve Uraz, 2011). β -Laktamlar en önemli antibiyotik sınıfından biridir. Son 60 yıldır çok sayıda türün neden olduğu bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde en başarılı ilaçlar arasında β -Laktamlar yer almıştır. 2004 yılından bu yana dünya antibiyotik pazarının %65'inden fazlasını kapsamaktadır. β -Laktaman tibiyotiklerin penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler ve monobaktamları kapsamaktadır (Worthington ve Melander, 2013).

Birçok bakteri türünün en önemli direnç mekanizmalarından birisi beta-laktamaz enzimi üretmek ve β -Laktam antibiyotikleri hidrolize ederek inaktif hale getirmektir. Antibiyotik hedef bölgesine ulaşmadan beta-laktamaz enzimi β -Laktam halkasını hidrolize ederek antibiyotiği etkisiz hale getirir. Günümüze kadar 350'ye yakın beta laktamaz enzimi tanımlanmıştır. Yaklaşık 150'si GSBL enzimleridir.

Gram-negatif basillerde bulunan, geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama karşı dirençten sorumlu olan enzimler GSBL'lerdir. Enfeksiyonların tedavisinde GSBL, geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklere direnç göstermeleri sebebiyle ciddi sorunlar oluşturmaktadır. GSBL üretiminin, özellikle *Klebsiella* türlerinde, hızla yayılması ciddi sorunlar oluşturmaktadır (Yılmaz ve Uraz, 2011).

Türkiye de ve dünyada son yıllarda klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella* türlerinde değişen oranlarda GSBL ürettiği bildirilmiştir (Yılmaz ve Uraz, 2011).

Alexander Fleming 1928 yılında penisilini keşfetmiştir. Daha sonra 1940 yılında Abraham ve Chain *E. coli*'den elde ettikleri özütün penisilin etkisini ortadan kaldırdığını belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar elde ettikleri enzime "penisilinaz" olarak isimlendirmişlerdir. β -Laktam halkasında bulunan amid bağı parçalayarak antibiyotikleri etkisiz hale getiren enzimlere beta-laktamazlar denir (Dağlar ve Öngüt, 2012).

β -Laktam antibiyotiklere karşı bakteriyel direncin en yaygın tek nedeni beta-laktamazlardır. Çok sayıda kromozomal ve plazmid aracılı tip tespit edilmiştir. fenotipik özelliklerine veya dizilerine göre sınıflandırılabilirler.

Bir beta-laktamazın, aktivitesine, miktarına ve hücresel konumuna ve Gram-negatif organizmalar için üretici suşun geçirgenliğine göre direnç oluşturma yeteneği değişir (Livermore, 1995).

Birçok Gram negatif bakterileri cinsi, doğal olarak oluşan, kromozomal aracılı bir beta-laktamaz bulundurur. Bu enzimlerin, penisilin bağlayıcı proteinlerden evrimleştiği ve bir miktar dizi homologisi gösterdikleri düşünülmektedir. Muhtemelen bu gelişme, beta-laktamaz üreten toprak organizmalarının uyguladığı seçici baskıdan kaynaklanmıştır. Plazmit aracılı beta-laktamaz olan TEM-1, Gram negatiflerde ilk olarak 1960'ların başında tanımlanmıştır (Bradford, 2001).

Gram negatif çomaklarda bulunan beta-laktamazlar 1960'lardan sonra semisentetik penisilinler, metisilin ve ampisilin, 1. kuşak sefalosporinlerden sefaloridin ve sefalotinin geliştirilmesiyle önemli bir direnç mekanizması haline gelmiştir. Gram negatif bakterilerde beta-laktamazlar plazmid kontrolünde sentezlenebildiğinden ve çok fazla bulunduğundan çok kısa sürede dirençte artış gözlenmiştir. 1980'li yıllarda beta-laktamazlarla hidrolize olmayan yeni β -Laktam geliştirilmesi 3. kuşak sefalosporinlerin yaygın olarak kullanılmasına yol açmıştır (Dağlar ve Öngüt, 2012).

K. pneumoniae suşunda, Almanya'da, 1983 yılında, 3. kuşak sefalosporinleri de parçalayan plazmid kaynaklı bir beta-laktamaz tespit edilmiştir. *Klebsiella spp.* türlerinde sık olarak bulunan SHV-1 beta-laktamazından mutasyonla oluşan SHV-2 enzimi yeni beta-laktamaz olarak belirlenmiştir. Daha sonra Fransa'da, seftazidime dirençli *K.pneumoniae* suşlarında, seftazidimi hidrolize eden TEM-2 enziminden yalnız iki aminoasit farkı bulunan plazmid kaynaklı bir beta-laktamaz tespit edilmiştir (Dağlar ve Öngüt, 2012).

β-laktam antibiyotiklere direnç gelişimi iki mekanizmadan biriyle gerçekleşir:

1) Gram-negatif bakterilerde beta-laktamaz üretimi sonucu en yaygın direnç mekanizmasıdır.

2) Çoğu β-laktam antibiyotiğe karşı daha düşük afiniteye sahip değiştirilmiş bir PBP (penisilin bağlayıcı proteinler) üretimi sonucu gelişen direnç mekanizması ile gerçekleşir. Serin beta-laktamazlar ve metallo-beta-laktamazlar (MBL) olmak üzere İki yapısal beta-laktamaz türü vardır.

Sefalosporinleri hidrolize eden GSBL ve karbapenem antibiyotiklerini hidrolize eden *Klebsiella pneumoniae* karbapenemazları (KPC) gibi karbapenemazlar beta-laktamazlar arasında bulunur.

Aktif bölgelerinde çoğu β-laktama uyum sağlayabilen ve karbapenemler dahil olmak üzere hemen hemen tüm β-laktam antibiyotiklerini hidrolize eden Zn (II) bağımlı enzimler MBL'lerdir. Beta-laktamaz sınıfının klinik önemini artmasında, Yeni Delhi metallo-beta-laktamaz (NDM-1) da dahil olmak üzere plazmid kodlu MBL'leri barındıran Gram-negatif bakterilerin son zamanlarda uluslararası alanda yaygınlaşması etkili olmuştur (Worthington ve Melander, 2013).

Yüksek düzeyde β-laktam direnci çok sayıda direnç geni içeren plazmidlerin edinilmesiyle sağlanabilir. Bu plazmidler birçok bakteri türü arasında hızla yayılabilir ve bazı bakterileri bilinen hemen hemen tüm β-laktam antibiyotiklerine dirençli hale getirebilir (Worthington ve Melander, 2013).

2.3. Quorum Sensing

QS, bakterilerin popülasyon yoğunluğundaki değişikliklere yanıt olarak biyolojik fonksiyonları düzenlemesine olanak tanıyan, dolayısıyla çevresel adaptasyon için bir mekanizma görevi gören hücreden hücreye bir iletişim sistemidir.

Sistem, otoindüktörler olarak adlandırılan hücre dışı sinyal moleküllerinin üretimi, salgılanması ve belirlenmesi ile düzenlenir (Chen ve ark., 2020).

Kullanılan algılama düzeneğine göre salgılanan moleküler ve üç tip çevreyi algılama mekanizması vardır: Gram-negatif bakterilerde LuxI homologları denilen bazı enzimler türe özgü AHL moleküllerini katalizler (Filik ve Kubilay, 2019). Bu AHL'lar LuxR tipi transkripsiyonel düzenleyiciler tarafından algılanır. Gram-pozitif bakterilerde ise sinyal iletimi için oligopeptitlere bağlı olarak iki bileşenli fosforlama zinciri kullanılır. Üçüncü ve son mekanizma "Hibrit sistem"dir. *V. harveyi* modeli de denir. Burada hem oligopeptidleri görülür hem de LuxI/LuxR tipi proteinler hücre içinde sinyal yolunda görev alır (Filik ve Kubilay, 2019).

İki ana otoindüktör sınıfı, Tip I QS ve Tip II QS olarak adlandırılan iki sistem tarafından belirlenir. AHL türevleri Tip I QS'de otoindüktör-1 molekülleridir. Otoindüktör-2 (AI-2) de Tip II QS'de sinyal molekülleri olarak bilinir. Tip I QS sistemi, tür içi iletişim için kullanılan son derece spesifik bir sistem iken Tip II QS sisteminin türler arası iletişim için çalıştığına ve bakterilerin yalnızca kendi AI-2'lerine değil, diğer türler tarafından üretilen AI-2'ye de yanıt vermesine olanak sağladığı düşünülmektedir (Chen ve ark., 2020).

QS, hücre yoğunluğuna bağlı gen ifadesini düzenleyen ve hareketlilik, yapışma ve biyofilm oluşumu gibi bakteriyel virülansı düzenleyen hücre yoğunluğuna bağlı bir kimyasal sinyal sistemidir (Al-Bayati ve Samarasinghe, 2022). QS, senkronize olarak hareket eden bakteri grupları tarafından gerçekleştirildiğinde yararlı olan aktiviteleri yönlendiren genleri kontrol eder. QS tarafından kontrol edilen süreçler arasında biyoluminesans, sporülasyon, yeterlilik, antibiyotik üretimi, biyofilm oluşumu ve virülans faktörü salgılanması bulunur (Rutherford ve Bassler, 2012).

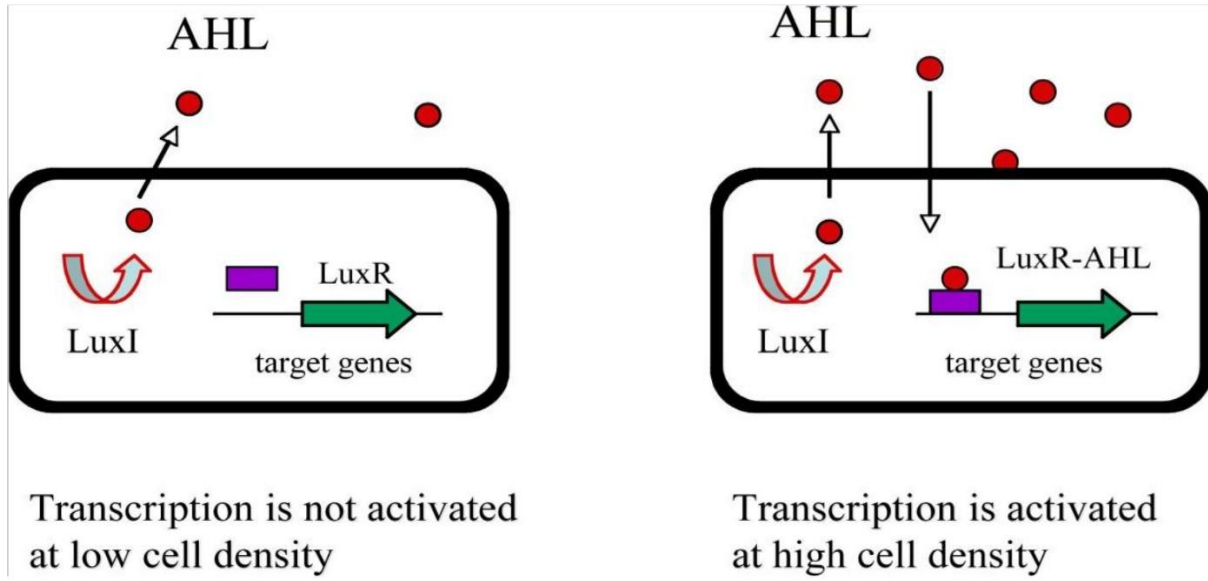
Gram-pozitif bakterilerde QS, AI görevi gören oligopeptitler tarafından engellenirken, Gram-negatif bakterilerde QS, AI görevi gören AHL'ler tarafından engellenir.

Ayrıca hem Gram pozitif hem de Gram negatifin QS'si, otoindüktör 2 (AI-2) olarak adlandırılan furanosil borat diester molekülü tarafından engellenebilir (Shaaban ve ark., 2019).

QS'ye göre düzenleme hem yeterlilik, konjugasyon, simbiyoz, virülans, hareketlilik, sporlanma, antibiyotik üretimi ve biyofilm oluşumu dahil olmak üzere birçok bakteriyel aktivite ve davranış QS tarafından organize edilmektedir. Bu nedenle QS, bakteriyel enfeksiyonlara müdahale için çekici bir hedefi temsil eder ve bu da bakteriyel virülansın ortadan kaldırılmasına yol açar. Bu nedenle, QS ile müdahale, yaygın olarak kullanılan antibiyotikler yerine yeni antipatojenik ilaçların geliştirilmesine yardımcı olan patojenik enfeksiyonların tedavisinde yeni bir dönem olarak tanıtılmıştır. Son zamanlarda, bakteri üremesine müdahale etmeden bakteriyel virülansı azaltmak ve ardından bakteriyel virülans faktörlerini inhibe etmek için çekirdek algılama inhibitörleri (QSI'ler) geliştirilmiştir (Shaaban ve ark., 2019). Sinyal molekülleri sentezi, Gram-negatif bakterilerde, LuxI benzeri bir proteine bağımlı olan AHL dir. AHL'ler hücre zarından serbestçe yayılır ve hücre yoğunluğuna orantılı olarak konsantrasyonları artar (Li ve Tian, 2012).

AHL'nin tanınmasından LuxR benzeri protein sorumludur. Bu protein AHL'ye bağlandığında, LuxR benzeri protein spesifik promotör DNA elemanlarına bağlanır ve hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder. LuxI/LuxR çiftlerinin biyokimyasal etki mekanizması korunmuştur (Li ve Tian, 2012).

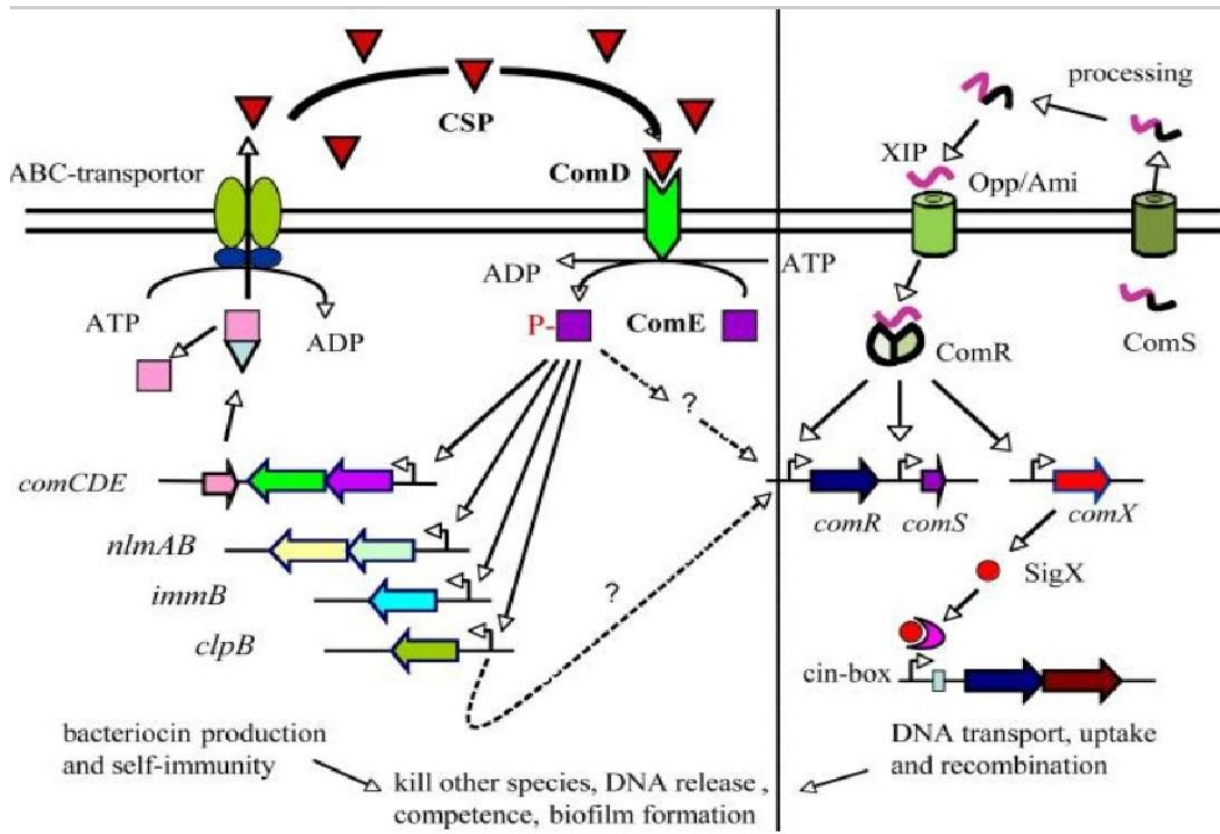
LuxI benzeri enzimler, yağ asidi biosentetik makinesinden gelen spesifik bir asil-asil taşıyıcı proteinin (asil-ACP) asil yan zincirini S adenosil metioninin (SAM) homosistein kısmına bağlayarak spesifik bir AHL üretir. Bu ara ürün, metiltiyoadenozin salgılayarak asil-HSL oluşturmak üzere laktonize olur (Şekil 2.10.). Gram negatif bakterilerden geniş bir hücresel süreç yelpazesini kontrol etmek için LuxI/LuxR tipi çoğunluk algılamayı kullanan yüzlerce tanımlanmıştır. Her tür, spesifik bir AHL veya benzersiz bir AHL kombinasyonu üretir ve yalnızca aynı türün üyeleri kendi sinyal molekülünü tanır ve ona cevap verir (Li ve Tian, 2012).



Şekil 2.10. Gram negatif bakterilerde LuxI/LuxR tipi quorum sensing algılama (Li ve Tian, 2012).

Gram-pozitif bakterilerde iki tipte QS sistemi tanımlanmıştır. İlk tipte, çoğunluk algılama sistemleri, otoindükleyici peptit (AIP) olarak bilinen bir sinyal peptidi ve özel olarak bir AIP'yi algılayan ve ona yanıt veren iki bileşenli bir sinyal iletim sistemi olmak üzere genellikle üç bileşenden oluşur. AHL sinyallerinden farklı olarak, hücre zarı AIP'ye geçirgen değildir, bunun yerine büyük ölçüde bir ABC taşıyıcısı olan özel bir oligopeptit taşıyıcısı, AIP'yi hücre dışı ortama salgılamak için gereklidir. Gram pozitif bakteriler normal olarak çift glisin konsensüs dizisinden kesilen bir sinyal peptid öncüsü üretir. Aktif AIP daha sonra peptit-spesifik bir ABC taşıyıcısı aracılığıyla ortamlarına aktarılır (Şekil 2.11.) (Li ve Tian, 2012).

Sinyal peptidleri genellikle Gram pozitif bakterilerde tipik olarak 5-25 amino asitten oluşur ve bazıları farklı yan zincirler içerir. Sinyal peptitlerinin tespiti, Gram pozitif bakterilerde AIP'yi algılayan bir zarla ilişkili histidin kinaz proteini ve hücrenin gen ifadesinin düzenlenmesi yoluyla peptide yanıt vermesini sağlayan bir sitoplazmik yanıt düzenleyici proteinden oluşan iki bileşenli bir sinyal iletim sistemi aracılığıyla oluşturulur (Li ve Tian, 2012).



Şekil 2.11. Gram pozitif bakteri *S. mutans*'ta iki tip sinyalleme peptit aracılı QS sistemi (Li ve Tian, 2012).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Seçimi

Çalışmaya, Mart 2022-Mart 2024 tarihleri arasında, Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerden kabul edilen örneklerden (kan kültürü, trakeal, aspirat, apse yara kültürü, katater kültürü, balgam kültürü, idrar kültürü) izole edilen *K. pneumoniae* suşları dahil edilmiştir.

3.2. Örneklerin Toplanması, İzolasyonu

Mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerin ekimi %5 koyun kanlı agar ve EMB agar besiyerlerine tek koloni ekimi yapılarak yapılmıştır (Şekil 3.1. ve Şekil 3.2.). Ekim yapılan besiyerleri 24-48 saat 35°C'de etüvde inkübe edilmiştir. İdrar örneklerinden 100.000 koloni üzerinde üreyenler çalışmaya alınmıştır. Morfolojik olarak (EMB) agarda mor-pembe mukoid, kolonilerden *K.pneumoniae* olduğu düşünülen örnekler ileri tanımlama işlemlerine alınmıştır. Her hastadan aynı anda gelen farklı klinik örneklerden tek bir suş çalışmaya dahil edilmiştir.



Şekil 3.1. *Klebsiella pneumoniae* EMB agar görüntüsü



Şekil 3.2. *Klebsiella pneumoniae* kanlı agar görüntüsü

3.3. Bakterilerin İdentifikasyonu

Morfolojik olarak (EMB agarda mor-pembe mukoid, koloniler) *K.pneumoniae* olduğu düşünülen örneklerdeki bakterilerin tanımlama işlemleri, matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrofotometrisi (MALDI-TOF MS) teknolojisi ile çalışan VITEK ® 2 MALDI-TOF MS (bioMerieux, Marcy'l'Etoile, France) ile yapılmıştır. MALDI-TOF MS kalite kontrolü için *E. coli* ATCC 8739 standart suşları kullanılmıştır.

3.4. Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılığı

İdentifikasyon sonrasında *K. pneumoniae* olduğu belirlenen örneklerin antibiyotik duyarlılıkları BD Phoenix otomatize sistemi (Becton-Dickinson, ABD) ile çalışılarak sistem tarafından verilen MİK değerleri Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) 2024, version 14.0, kriterleri doğrultusunda değerlendirilmiştir. Delafloksasin için FDA tarafından verilen MİK değerleri doğrultusunda değerlendirilmiştir.

BD Phoenix otomatize sistemi (Becton-Dickinson, ABD) ile yapılan antimikrobiyal duyarlılık testleri kalite kontrolü için *E. coli* ATCC 13848, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* NCTC 13476, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *K. pneumoniae* ATCC 25955 standart suşları kullanılmıştır. Kolistin ve tigesiklin duyarlılıkları ve MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon metoduyla doğrulanmıştır.

Ayrıca bu örneklerden 0.5 ml alınıp steril distile suda McFarland 0.5'e ayarlanmış ve Mueller Hinton agarda Kirby-Bauer yöntemi ile disk difüzyon testi çalışılarak delafloksasin, ceftolozane-tazobactam, meropenem-vaborbactam, ceftazidime-avibactam antibiyotiklerinin antibiyogram duyarlılıkları belirlenmiştir.

Ayrıca GSBL pozitifliği çift-disk sinerji yöntemi; sefotaksim, seftazidim ve amoksisilin-klavulanat diskleri kullanılarak yapıldı. Bunun için Mueller Hinton Agar besiyeri üzerine merkezde amoksisilin-klavulanik asit (20/10 µg) (AMC) olmak üzere çevresine disk merkezleri arası uzaklık 25 mm olacak şekilde seftazidim (10 µg) (CAZ), seftriakson (30 µg) (CRO), sefotaksim (5 µg) (CTX) ve aztreonam (30 µg) (ATM) diskleri yerleştirildi. Plakların 35-37 °C'de 18-24 saatlik inkübasyonundan sonra CAZ, CRO, CTX ve ATM diskleri çevresindeki inhibisyon zonunun AMC diskine doğru ≥ 5 cm genişlemesi ve/veya iki inhibisyon zonu arasında bakteri üreyen alanlarda üreme olmayan bir bölgenin varlığı ile GSBL üretiminin olduğuna karar verildi.

Bu izolatlar boncuk içeren kültür saklama tüplerine (OR-BAK, Türkiye) alınıp Real-Time PCR çalışması için -20 C'de saklanmıştır.

3.5. DNA İzolasyonu ve PCR Çalışması

3.5.1. Bakteriden DNA izolasyonu :

Prosedür:

Dondurucudan çıkarılan saklama tüpleri içerisindeki seramik boncuklardan alınıp koyun kanlı agar besiyerine tek koloni ekimi yapılarak 24-48 saat 35°C'de etüvde inkübe edilerek, bakteriler canlandırılmıştır. PCR için taze kültürler kullanılmıştır. İzolatların DNA izolasyonu aşağıdaki adımlar izlenerek yapılmış ve DNA eldesi hem jel elektroforezi ile hem de RT-PCR'de housekeeping gen ile doğrulanmıştır.

Örnekler PBS ile resüspanse edilmiştir.

1. Bir ependorfa 200µl PBS ile resüspanse edilen örnekten alınarak, 200 µl *binding buffer* ve 40µl proteinaz K eklenmiş ve +70°C'de 10 dk (dakika) bekletilmiştir.
2. Üzerine 100µl izopropanol eklenmiş ve pipetaj yapılmıştır.
3. Bu karışım kit içerisinde verilen filtreli tüplere konularak 1 dakika 8000 g'de santrifüj yapılmıştır. Alttaki tüp atılarak filtre yeni toplama tüpüne aktarılmıştır.

4. Filtreli tüpün üzerine 500µl inhibitör giderme tamponu eklenerek alt üst yapılmıştır. 1 dk 8000 g'de santrifüj edilerek alttaki tp atlmş ve filtre yeni toplama tüpüne aktarlmştır.
5. Filtreli tüpün üzerine 500µl. yıkama tamponu eklenerek alt üst yapılarak karştırlmştır. 1 dk 8000 g'de santrifüj edilerek alttaki tp atılır ve filtre yeni toplama tüpüne aktarlmştır.
6. 5. adım tekrarlanmıştır. Daha sonra alttaki tüpün içerisindeki sıvı atılır ve tekrar filtreli tüpe alınmıştır. Maksimum hızda 13.000 X g'de tekrar santrifüj edilmiştir.
7. Filtreli tp, steril 1.5ml ependorf tüpün içerisine alınmıştır. zerine 200µl (daha önceden +70 °C'de ısıtlmş) elüsyon tamponu eklenmiştir. 1 dk 8000 g'de santrifüj edilmiştir.
8. Hemen alışılacaksa 2-8 °C'de, bekleyecek ise -20 °C'de saklanmıştır.

3.5.2. Bakteriden RNA izolasyonu

1. Petriden alınan bakteriler ze yardımıyla 1 ml miRNA Extractor içerisine alındı. Oda sıcaklığında 5-10 dakika inkübasyona bırakıldı.
2. 0.2 ml Kloroform eklenerek 30 saniye vorteks yapıldı. 4 ° C'de 10 dakika boyunca 12.000 x g'de santrifüj edildi.
3. Santrifüjleme sonrası, numune 3 faza ayrılır. En üstte bulunan renksiz ve sulu faz kısım RNA içerir.
4. Süpernatantı (yaklaşık 540 µl) temiz bir 1,5 ml RNaz içermeyen santrifüj tüpüne aktarıldı.
5. 1,5 hacim (genellikle 810 µl) %100 etanol eklenildi. Birkaç kez yukarı ve aşağı pipetleyerek iyice karıştırıldı.
6. 750 ul çözeltiyi kit içerişinde verilen Spin Column TR'ye aktarın ve 12.000 x g'de 2 dakika santrifüj yapılarak akış atıldı.
7. Kalan çözeltiyi tekrar Spin Column TR'ye aktararak 12.000 x g'de 30 saniye santrifüj yapılarak akış atıldı.
8. Spin Column TR'ye 0,5 ml RPE Solüsyonu eklenildi, 12.000 x g'de 30 saniye santrifüj edildi, akış atıldı
9. 8. Adım tekrarlandı.
10. 30 saniye boyunca 12.000 x g'de tekrar santrifüjleyin. Bu adım, etanolün tamamen uzaklaştırılması için çok önemlidir.

11. Kolonu yeni bir 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne yerleştirilerek, 30-50 µl RNaz içermeyen Su eklenildi ve 2 dakika bekletildi. 30 saniye boyunca 12.000 x g'de santrifüj yapılarak ayrıştırılan RNA çözeltisini -80°C'e kaldırıldı.

3.5.3. cDNA eldesi

Ölçümleri yapılan RNA'ların gerekli hesaplamalar yapılarak Aşağıda verilen abm cDNA izolasyon kiti (G236)'ne ait tablo uygulanarak tüm örnekler için reaksiyon kuruldu.

Component	Volume
5X RT Buffer	4 µl
dNTP	1 µl
Primers	1 µl
Total RNA or poly(A) + mRNA	Variable (1 ng - 2 µg/rxn)
OneScript® Plus RTase	1 µl
Nuclease-free H ₂ O	up to 20 µl

- 50-55°C'de 15 dakika inkübe ederek cDNA sentezini gerçekleştirin.
- 85°C'de 5 dakika ısıtarak reaksiyonu durdurun ve buz üzerinde soğutun.

3.5.4. Real time PCR

PCR reaksiyon koşulları tabloda verildiği şekilde hazırlanarak tüpler *thermocycler* cihazına yerleştirilmiş ve Tablo 3.1. de verilen PCR protokolü uygulanmıştır.

Tablo 3.1. PCR Protokolü.

İçerik	Hacim
Sybrgreen Master Mix	10 µl
(Sirt1 veya actin) forward primer 500 nM	1 µl
(Sirt1 veya actin) reserve primer 500 nM	1 µl
cDNA	5 µl
H ₂ O	3 µl
Toplam Hacim	20 µl

Her bir örnek için yukarıdaki protokole 2,5 µl DNA eklenerek Biorad marka T100 model sistemlerinde firma önerileri doğrultusunda çalışılmıştır.

Tablo 3.2. PCR Reaksiyon Sıcaklık ve Süreleri.

İşlem	Süre ve Sıcaklık
Denaturasyon	95°C de 5 dk.
Amplifikasyon	95°C de 30 sn.
Bu döngü 35 kez sağlanır. (35 cycle, Ramp-rite 1,6°C/sn, saniyedeki ısı değişimi)	X °C de 45 sn 72 °C de 60 sn Okuma
Anneling	72°C de 5 dk.
Cooling	4 °C de 1 dk.

1X'lik TAE ve 0,9 g agarose ile % 1,5'luk jel hazırlanmış. PCR ürünleri kuyucukara yüklenerek 60V'da 40 dk yürütülmüştür. Ardından UV translüminatör ile görüntüleme yapılmıştır. PCR işlemi için kullanılan primerler Tablo 3.3.'te gösterilmiştir

Tablo 3.3. Kullanılan Primerler.

Gen	Primer Dizisi	Bağlanma Sıcaklığı	Kaynak
16srRNA	F: GGAGGAATACCGGTGGCGAA R: CCTCAAGGGCACAACCTCCA	62°C 62°C	Al-Bayative Samarasinghe, (2022)
<i>Luxs s</i>	F: GGAACGCGGTATCCACAC R: TGAGCTCCGGATCTGGT	64°C 64°C	Farhood ve Chelab (2021)
<i>Lsr R</i>	F:CTTCCGTTACCAGGCCATTA R: CTATATCAGCGAGGGCGAAC	64°C 64°C	Farhood ve Chelab (2021)
<i>LsrK</i>	F: CAGGGTACCGTCTCTTTGA R: TACGAGGTCTCGGGACAAAC	64°C 64°C	Farhood ve Chelab (2021)
<i>blaOXA-48</i>	F:TGTTTTTGGTGGCATCGAT R:GTAAMRATGCTTGGTTTCGC	60°C 60°C	Doğan ve Uğraklı (2023)
<i>bla-KPC</i>	F:TCGCTAAACTCGAACAGG R:TTACTGCCCCTTGACGCCCAATCC	60°C 60°C	Doğan ve Uğraklı (2023)
<i>bla-NDM-1</i>	F:TTGGCCTTGCTGTCCTTG R:ACACCAGTGACAATATCACCG	60°C 60°C	Doğan ve Uğraklı (2023)
<i>bla-IMP</i>	F:GAGTGGCTTAATTCTCRATC R:AACTAYCCAATAYRTAAC	60°C 60°C	Doğan ve Uğraklı (2023)
<i>bla-VIM</i>	F:GTTTGGTTCGCATATCGCAAC R:AATGCGCAGCACCAGGATAG	60°C 60°C	Doğan ve Uğraklı (2023)

3.6. İstatiksel Analiz

Kategorik değişkenler için frekans ve yüzde tanımlayıcı istatistikleri verilmiştir. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki kare ve Fisher exact testleri kullanılmıştır. Gruplar arasındaki Fold Change değerlerinin karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Analizler R 4.3.2 (R Core Team,2024) programı ile yapılmıştır. $p < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.





4.BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen örneklerden izole edilen ve *K. pneumoniae* olarak tanımlanan 100 izolat çalışmaya dahil edilmiştir. İzole edilen bakterilerin 22 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılıkları değerlendirilmiştir.

Çalışmada yer alan hastaların %54'ü (n=54) erkek ve %46'sı(n=46) kadındır. Çalışmada hastaların yaş aralıkları 0-84 yaş aralığındadır. Çalışmaya dâhil edilen *K. pneumoniae* örneklerinin türü yüzdesi Tablo 4.1.de verilmiştir. Örneklerin alındığı servis, hasta sayısı ve yüzdesi Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Örneklerin türü ve yüzdesi.

Örneklerin türü	Sayısı	(%) Yüzdesi
İdrar kültürü	48	48
Kan kültürü	33	33
BAL kültürü	10	10
Balgam kültürü	2	2
Drenaj Mayi kültürü	4	4
Katater kültürü	1	1
Dren kültürü	1	1
BOS kültürü	1	1
Toplam	100	100

Tablo 4.2. Örneklerin alındığı servis, hasta sayısı ve (%) oranları.

Örneklerin geldiği poliklinik ve servisler	Sayısı	(%) Yüzdesi
Poliklinik	27	27
Servis	38	38
Yoğun bakım	35	35

Çalışmada *K. pneumoniae* izolatlarının, 18 farklı antibiyotiğe karşı otomatize sistemle belirlenen duyarlılık test sonuçlarının (R: Dirençli, S: Duyarlı ve I:Duyarlı, yüksek doz) yüzde oranları Tablo 4.3.'te verilmiştir. Tigesiklin, kolistin, amikasin ve gentamisine sırasıyla (89,84,63 ve 62) oranında duyarlılık görülürken, en yüksek direnç ampicillin, sefazolin, amoksisiln/klavulanik asit ve sefuroksime (sırasıyla 100, 85, 84, 81) oranlarda gözlenmiştir. Antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Antibiyotik duyarlılık sonuçları.

Antibiyotik ismi	Duyarlı (S)	Duyarlı, yüksek doz (I)	Dirençli (R)	(%) Yüzdesi
Amikasin	63		37	63
Amoksisiln/klavulanik asit	16		84	16
Ampicillin	0		100	0
Ciprofloksacin	31	6	63	31
Colistin	84		16	84
Ertapenem	38	2	60	38
Gentamisin	62		38	62
İmipenem	46	9	45	46
Levofloksasin	32	12	56	32
Meropenem	49		51	49
Piperacillin/Tazobactam	38	2	60	38
Sefazolin	15		85	15
Sefepim	26	1	73	26
Seftazidim	21		79	21
Ceftriaxone	21	1	79	21
Sefuroksim	19		81	19
Tigesiklin	89	10	1	89
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	43	2	55	43

Çalışmada 100 adet *K. pneumoniae* izolatın 65 tanesinde GSBL pozitifliği belirlenmiştir. Çalışmada 100 adet *K. pneumoniae* izolatları, 4 farklı yeni antibiyotiklerden olan delafloksasin(DLX), ceftolozane-tazobactam(CT), meropenem-vaborbactam(MEV), ceftazidime-avibactam(CZA) antibiyotiklerine olan duyarlılıklar sonuçları Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. Delafloksasin (DLX), Ceftolozane-Tazobactam(CT), Meropenem-Vaborbactam(MEV) Ceftazidime-Avibactam(CZA) antibiyotiklerine olan duyarlılıkları ve yüzdeleri.

Antibiyotik ismi	Duyarlı (S)	Duyarlı, yüksek doz (I)	Dirençli (R)	(%) Yüzdesi
Ceftazidime-Avibactam	62		38	62
Ceftolozane-Tazobactam	42		58	42
Meropenem-Vaborbactam	56		44	56
Delafloksasin	25	1	74	25

Çalışmada 100 adet *K. pneumoniae* izolatlarında 35 tanesinin OXA-48, 13 tanesinin NDM ve 4 tanesinin KPC direnç genlerini içerdiği görülmüştür. IMP ve VIM direnç genleri hiçbir izolatta tespit edilememiştir. 12 izolatta OXA-48 ve NDM direnç genlerinin ikisi de tespit edilmiştir. OXA-48 ile KPC direnç genlerinin ikisi ve NDM ile KPC direnç genlerinin ikisini taşıyan hiçbir izolat tespit edilememiştir.

Çalışmada 100 adet *K. pneumoniae* izolatlarında QS genlerinden LuxS geninden 98 tane, LsrR geninden 98 tane ve LsrK geninden 97 tane tespit edilmiştir. Direnç genleri ve QS genlerinin sayıları ve oranları Tablo 4.5. te gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Direnç genleri ve QS genlerinin sayıları ve oranları.

Genlerin isimleri	Tespit edilen gen sayıları	(%) Yüzdesi
OXA-48	35	35
NDM	13	13
OXA-48+ NDM	12	12
KPC	4	4
VIM	0	0
IMP	0	0
LuxS	98	98
LsrR	98	98
LsrK	97	97

Direnç genleri ve antibiyotikler arasındaki istatistiksel oranlar Tablo 4.6, Tablo 4.7 verilmiştir. bla_kpc geni ve antibiyotikler arasındaki istatistiksel oran tespit edilen genin az olmasından dolayı yapılmamıştır. OXA-48 ve NDM1 için Fold Change ve p-değerleri Tablo 4.8 de verilmiştir.

Tablo 4.6. Antibiyotiklerin OXA-48 direnç geni ile oranlarının karşılaştırılması.

Değişken	0, N = 65 ¹	1, N = 35 ¹	P-value ²	Değişken	0, N = 65 ¹	1, N = 35 ¹	P-value ²
Amikasin			<0.001	Levofloksasin			0.005
R	9.00(24.32%)	28.00(75.68%)		I	11.00(91.67%)	1.00(8.33%)	
S	56.00(88.89%)	7.00(11.11%)		R	29.00(51.79%)	27.00(48.21%)	
Amoksisilin klavulanikasıit			0.001	S	25.00(78.13%)	7.00(21.88%)	
R	49.00(58.33%)	35.00(41.67%)		Meropenem			<0.001
S	16.00(100.00%)	0.00(0.00%)		R	22.00(43.14%)	29.00(56.86%)	
Ampicillin				S	43.00(87.76%)	6.00(12.24%)	
R	65.00(65.00%)	35.00(35.00%)		Piperacillin Tazobactam			<0.001
Ceftazidime Avibactam			0.004	I	1.00(50.00%)	1.00(50.00%)	
R	18.00(47.37%)	20.00(52.63%)		R	27.00(45.00%)	33.00(55.00%)	
S	47.00(75.81%)	15.00(24.19%)		S	37.00(97.37%)	1.00(2.63%)	
Ceftolozane Tazobactam			<0.001	Sefazolin			<0.001
R	25.00(43.10%)	33.00(56.90%)		R	46.00(56.79%)	35.00(43.21%)	
S	40.00(95.24%)	2.00(4.76%)		S	19.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
Meropenem Varobaktam			<0.001	Sefepim			<0.001
R	15.00(34.09%)	29.00(65.91%)		I	1.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
S	50.00(89.29%)	6.00(10.71%)		R	39.00(53.42%)	34.00(46.58%)	
Delafloksasin			0.7	S	25.00(96.15%)	1.00(3.85%)	
I	1.00(100.00%)	0.00(0.00%)		Seftazidim			0.001
R	46.00(62.16%)	28.00(37.84%)		R	45.00(56.96%)	34.00(43.04%)	
S	18.00(72.00%)	7.00(28.00%)		S	20.00(95.24%)	1.00(4.76%)	
Ciprofloxacın			0.047	Ceftriaxone			<0.001
I	6.00(100.00%)	0.00(0.00%)		I	1.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
R	36.00(57.14%)	27.00(42.86%)		R	44.00(56.41%)	34.00(43.59%)	
S	23.00(74.19%)	8.00(25.81%)		S	20.00(95.24%)	1.00(4.76%)	
Colistin			0.4	Sefuroksim			<0.001
R	9.00(56.25%)	7.00(43.75%)		R	46.00(56.79%)	35.00(43.21%)	
S	56.00(66.67%)	28.00(33.33%)		S	19.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
Ertapenem			<0.001	Tigesiklin			0.2
I	1.00(50.00%)	1.00(50.00%)		I	5.00(50.00%)	5.00(50.00%)	
R	26.00(43.33%)	34.00(56.67%)		R	0.00(0.00%)	1.00(100.00%)	
S	38.00(100.00%)	0.00(0.00%)		S	60.00(67.42%)	29.00(32.58%)	
Gentamisin			<0.001	Trimethoprim Sulfamet hoxazole			0.003
R	10.00(26.32%)	28.00(73.68%)		I	2.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
S	55.00(88.71%)	7.00(11.29%)		R	28.00(50.91%)	27.00(49.09%)	
İmipenem			<0.001	S	35.00(81.40%)	8.00(18.60%)	
I	4.00(44.44%)	5.00(55.56%)					
R	18.00(40.00%)	27.00(60.00%)					
S	43.00(93.48%)	3.00(6.52%)					

Tablo 4.7. Antibiyotiklerin bla_NDM1 direnç geni ile oranlarının karşılaştırılması

Değişken	0, N = 87 ¹	1, N = 13 ¹	p-value ²	Değişken	0, N = 87 ¹	1, N = 13 ¹	p-value ²
Amikasin			<0.001	Levofloksasin			0.002
R	25.00(67.57%)	12.00(32.43%)		I	12.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
S	62.00(98.41%)	1.00(1.59%)		R	43.00(76.79%)	13.00(23.21%)	
Amoksisilin klavulanikasıit			0.12	S	32.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
R	71.00(84.52%)	13.00(15.48%)		Meropenem			<0.001
S	16.00(100.00%)	0.00(0.00%)		R	38.00(74.51%)	13.00(25.49%)	
Ampicillin				S	49.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
R	87.00(87.00%)	13.00(13.00%)		Piperacillin Tazobactam			0.002
Ceftazidime avibactam			<0.001	I	2.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
R	25.00(65.79%)	13.00(34.21%)		R	47.00(78.33%)	13.00(21.67%)	
S	62.00(100.00%)	0.00(0.00%)		S	38.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
Ceftolozane tazobactam			0.001	Sefazolin			0.12
R	45.00(77.59%)	13.00(22.41%)		R	68.00(83.95%)	13.00(16.05%)	
S	42.00(100.00%)	0.00(0.00%)		S	19.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
Meropenem varobaktam			<0.001	Sefepim			0.026
R	31.00(70.45%)	13.00(29.55%)		I	1.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
S	56.00(100.00%)	0.00(0.00%)		R	60.00(82.19%)	13.00(17.81%)	
Delafloksasin			0.067	S	26.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
I	1.00(100.00%)	0.00(0.00%)		Seftazidim			0.064
R	61.00(82.43%)	13.00(17.57%)		R	66.00(83.54%)	13.00(16.46%)	
S	25.00(100.00%)	0.00(0.00%)		S	21.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
Ciprofloxacın			0.009	Ceftriaxone			0.11
I	6.00(100.00%)	0.00(0.00%)		I	1.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
R	50.00(79.37%)	13.00(20.63%)		R	65.00(83.33%)	13.00(16.67%)	
S	31.00(100.00%)	0.00(0.00%)		S	21.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
Colistin			0.4	Sefuroksim			0.12
R	13.00(81.25%)	3.00(18.75%)		R	68.00(83.95%)	13.00(16.05%)	
S	74.00(88.10%)	10.00(11.90%)		S	19.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
Ertapenem			0.002	Tigesiklin			0.2
I	2.00(100.00%)	0.00(0.00%)		I	7.00(70.00%)	3.00(30.00%)	
R	47.00(78.33%)	13.00(21.67%)		R	1.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
S	38.00(100.00%)	0.00(0.00%)		S	79.00(88.76%)	10.00(11.24%)	
Gentamisin			0.004	Trimethoprim Sulfamet hoxazole			0.070
R	28.00(73.68%)	10.00(26.32%)		I	2.00(100.00%)	0.00(0.00%)	
S	59.00(95.16%)	3.00(4.84%)		R	44.00(80.00%)	11.00(20.00%)	
İmipenem			<0.001	S	41.00(95.35%)	2.00(4.65%)	
I	9.00(100.00%)	0.00(0.00%)					
R	32.00(71.11%)	13.00(28.89%)					
S	46.00(100.00%)	0.00(0.00%)					

Tablo 4.8. OXA-48 ve NDM1 için Fold Change ve p-Değerler

OXA-48			
Gen	OXA-48 (+) Fold Change	OXA-48 (-) Fold Change	p- değeri
LsrR	2,13	2,26	0,172
LsrK	1,21	1,62	0,094
LuxS	1,62	1,29	0,678

NDM1			
Gen	NDM1 (+) Fold Change	NDM1 (-) Fold Change	p- değeri
LsrR	3,48	2,02	0,984
LsrK	1,46	1,48	1,0
LuxS	1,55	1,39	0,569

5.TARTIŞMA

K. pneumoniae, çevrede her ortamda bulunabilir. Bununla birlikte sağlıklı bireylerin cildinde, gastrointestinal ve solunum yollarında bulunan bir komensal bakteridir. Solunum yolu enfeksiyonları, İYE, kan dolaşımı enfeksiyonları, yara ve yumuşak doku enfeksiyonları gibi çok çeşitli toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara sebep olabilen fırsatçı bir patojendir. Son zamanlarda, özellikle yenidoğanlarda, bağışıklık sistemi zayıflamış bireylerde ve yaşlılarda yükselen ölüm oranıyla, dünyanın önde gelen SHİE nedenlerinden biri haline gelmiştir. Ayrıca, ciddi toplum kaynaklı enfeksiyonlar arasında olan zatüre ve menenjit ile daha fazla ilişkilendirilmektedir. *K. pneumoniae* yaygın dağılımı ve genetik yapısı nedeniyle, halk sağlığı için küresel bir tehdit olmaktadır (Herridge ve ark., 2020).

K. pneumoniae suşları geniş spektrumlu beta-laktamlardan olan penisilinler ve sefalosporinlere dirençlidir. *K. pneumoniae* suşları arasında GSBL üreten suşlar, karbapenem sınıfı antibiyotiklerden olan imipenem ve meropenem karşı duyarlı olmaya devam etmektedir. Ancak, KDKp suşlarının neden olduğu enfeksiyonlarının görülme sıklığı artmaktadır. Bu MDR organizmaların, GSBL üreten *K. pneumoniae*'ye karşı karbapenemlerin artan kullanımına yanıt olarak evrimleştiği ve çeşitli genetik öğelerin bağımsız olarak karbapenem direnci kazandırarak evrimleştiği düşünülmektedir (Herridge ve ark., 2020).

Tüm dünyaya yayılmış olan ve CTX-M-15 taşıyan *K. pneumoniae* türleri, hem hastane enfeksiyonlarının hem de yakın zamanda toplum kaynaklı enfeksiyonların giderek artan sıklığıyla ilişkilendirilmiştir. *K. pneumoniae* karbapenemazı (KPC), Avrupa'da, *K. pneumoniae* hastane kaynaklı enfeksiyonlarında (%45) oranla en yaygın karbapenemaz direnç genidir. Bunu %37 oranla oksasilinaz-48 (OXA-48 benzeri)geni, Daha sonra (%11) oranla Yeni Delhi metallo-beta-laktamazı (NDM) geni ve (%8) oranla Verona integron kodlu metallo-beta-laktamazı (VIM) takip eder. 2007'de Birleşik Krallık'ta, KPC, OXA-48 benzeri, NDM ve VIM'in doğrulanmış vakaları 0'dan 1'e yükselirken, 2015'te bu vakalar sırasıyla 661, 621, 439 ve 86 vakaya çıkmıştır (Herridge ve ark., 2020).

Akdeniz ve Kuzey Afrika'da OXA-48 benzeri *K. pneumoniae* suşlarının yayılması çoğunlukla meydana gelmiştir. ST101 suşları aracılığıyla bu bölgelerdeki seyahatler sonucu yayılırken, ST395 Avrupa genelindeki klonal salgınlarla ilişkilidir (Herridge ve ark., 2020).

Hindistan'da, öncelikle *Escherichia coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında NDM karbapenemaz üreticileri ortaya çıkmıştır. Hindistan alt kıtasına ve buradan yapılan seyahatlerin sonucunda tüm dünyaya yayılmıştır (Herridge ve ark., 2020).

Bizim çaişmamızda OXA-48 direnç geni oranı %35, NDM direnç geni oranı %13 ve KPC direnç geni oranı %4 oranında bulunmuştur. IMP ve VIM direnç geni saptanmamıştır. IMP direnç geni Türkiye'de yapılan son çaişmalarda (%0- %2) oranında, ama çoğunlukta tespit edilemezken bizim çaişmamızdada tespit edilememiştir. VIM direnç geni Türkiye'de yapılan son çaişmalarda (%0- %3) oranında, ama çoğunlukta tespit edilemezken bizim çaişmamızda da tespit edilememiştir.

Birleşik Krallık'taki NDM izolatlarının yarısından fazlasının Hindistan veya Pakistan'a seyahat öyküsü olan hastalardan geldiğini gösterilmiştir. Şu anda Avrupa'daki en yüksek NDM izolat konsantrasyonuna Birleşik Krallık sahip gibi görünmektedir. *K. pneumoniae*'nin antimikrobiyal direnç sorununa katkısının niceliksel olarak belirlenmesi zordur. Ancak, yakın zamanda yapılan karbapenem dirençli bakterilerin bir popülasyon genomik çaişması, hastane içinde ve hastaneler arası yayılmasının *K. pneumoniae*, karbapenemaz dirençli izolatların klonal soy hatları ST11, ST15, ST11 ve ST258/ST512 ve bunların türevlerinde yoğunlaşmasıyla, bu bakterilerin Avrupa'da yayılmasında başlıca etkilidir (Herridge ve ark., 2020).

QS, bakterilerin popülasyon yoğunluğundaki değişikliklere yanıt olarak biyolojik aktivitelerini ayarlamalarına olanak tanıyan, böylece çevresel adaptasyon için bir mekanizma görevi gören hücreler arası bir iletişim sistemidir. Bu sistem, otoindüktörler adı verilen hücre dışı sinyal moleküllerinin üretimi, salgılanması ve tanınmasıyla kontrol edilir.

Otoindüktörlerin iki ana kategorisi, Tip I QS ve Tip II QS adı verilen iki sistem tarafından tanımlanır. Tip I QS'de otoindüktör-1 molekülleri, AHL ürünleridir. Tip II QS'de, sinyal molekülleri otoindüktör-2 (AI-2) olarak bilinir. Tip I QS tür içi iletişim için kullanılan oldukça spesifik bir sistem olmasına rağmen, Tip II QS'nin türler arası iletişim için işlev gördüğüne ve bakterilerin yalnızca kendi AI-2'lerine değil, diğer türler tarafından üretilen AI-2'ye de yanıt vermesine izin verdiği düşünölmektedir (Ashurst ve Dawson, 2023).

Yerleşik topluluklarda bakterilerin birbirleriyle yakın mesafede yaşayabildiğinden dolayı, aynı veya farklı türlere ait bakteri hücreleri arasında kimyasal sinyalleme ve gen aktarımı için artan fırsatlar oluşur. Bu genetik mekanizma, antibiyotik dirençli fenotiplerin ve ilgili enfeksiyonların sürekli artan sıklığından büyük ölçüde sorumludur.

Bakteriyel enfeksiyonlarla mücadele için alternatif stratejiler geliştirmeye yönelik son çalışmalar, QS ve biyofilm oluşumu dahil olmak üzere bakteriyel süreçleri hedef alan yeni bileşiklerin tanımlanmasına yol açmıştır (Ashurst ve Dawson, 2023).

Temiz ve ark.(2015), 507 *Klebsiella* izolatu ile yaptığı çalışmada, *Klebsiella* izolatlarının 330'unda (%65.1) GSBLvarlığı saptandığını bildirmiştir. GSBL üreten ve üretmeyen izolatlarda in-vitro en etkili antibiyotikler her iki tür için amikasin ve imipenem olduğunu belirlemişlerdir. GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatlarında en etkili antibiyotik olarak amikasin olduğunu saptanmakla beraber %18 oranında direnç gözlemlemişlerdir.

İmipenem ve meropenem direnci, GSBL üretmeyen *K. pneumoniae* izolatlarında %1.9 oranında bulmalarına rağmen, GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatlarında imipenem direnci %23.5 ve meropenem direnci %24.7 oranında belirlemişlerdir.

Terzi ve ark. (2013), 218 *Klebsiella* suşundan 193'ünün (%89) *K. pneumoniae*, 25'inin (%11) *Klebsiella oxytoca* olduğu çalışmada GSBL üretimi *K. pneumoniae* izolatlarının 67'sinde (%35), *K.oxytoca* izolatlarının 4'ünde (%16) olmak üzere bütün izolatların 71'inde (%33) saptanmıştır. Kula Atik ve Uzun (2020), yaptıkları çalışmada 238 *klebsiella spp.* suşunda GSBL pozitiflik oranı % 72,6 olarak bulmuşlardır. Coşkun, (2018). De yaptığı çalışmada 73 adet *K. pneumoniae* suşunda GSBL pozitiflik oranı % 35,6 olarak bildirmiştir. Bizim çalışmamızda GSBL pozitiflik oranı %65 olarak bulunmuştur.

Kahraman ve ark. (2017), 871 *K. pneumoniae* izolatuyla yaptığı çalışmada antibiyotik direnç oranları sırasıyla en fazla amoksisilin-klavulanat, netilmisin, sefepim, , seftriakson, seftazidim, piperasilin-tazobaktam, trimetoprim-sulfametoksazol için bildirilmişlerdir. Sonuçlara göre izolatların %89'u kısıtlı bildirilmesi gereken ampisiline dirençlidir. Gentamisine karşı direnç oranı da %30'un üzerinde tespit edilmiştir. Bütün suşlara in-vitro olarak en etkili antibiyotik olarak amikasin saptanmıştır. Karbapenem direnci ise %37 oranında tespit edilmiştir. Tüm suşların GSBL üretimi %55 oranında bulunmuştur.

Bektaş ve ark.(2018),100 *K. pneumoniae* suşu ile yaptığı çalışmada çalışmaya alınan *K. pneumoniae* suşlarına karşı en etkili antibiyotik meropenem ve imipenem oranı %100 olarak bulunmuştur. Sefotaksim, seftriakson ve sefazolin bütün suşlara dirençli bulunmamıştır. *K. pneumoniae* suşları; meropeneme %100, imipenem%100, sefoksitin%90 ve amikasine %67 oranında duyarlı iken, sefazolin%99, sefotaksim%99, seftriakson%99 ve aztreonama %94 oranında dirence sahip olduğu bildirmişlerdir.

Süzük Yıldız ve ark.(2021), 493 örnekten 366 adet *K.pneumoniae* izolatları ile yaptığı çalışmada izolatların %49,7 'si ertepeneme, %43 'ü meropeneme ve %40,6'sı imipeneme dirençli bulunmuştur. Bu çalışmada *K.pneumoniae* izolatlarının en yüksek %71.6'sı kolistine, %62.8' i amikasine %57,4' ü gentamisine, en düşük olarak %24,3'ü sefotaksim, %23,8'i seftadizime duyarlı bulunmuştur. Karbapenem dirençli izolatlarda %47,4' ü kolistine, %55,9' u amikasine %60,2' i gentamisine dirençli bulunmuştur.

Yürek ve Cevahir (2022), 100 *K.pneumoniae* izolatı ile yaptığı çalışmada izolatların %45'i hvKp, %55'i cKp izolatı olarak belirlemişlerdir. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları değerlendirildiğinde cKp izolatlarına en etkili antibiyotikler gentamisin ve imipenem, hvKp izolatlarına en etkili antibiyotik imipenem olarak bulmuşlardır. cKp ve hvKp izolatlarında en düşük duyarlılık seftazidimde tespit etmişlerdir. HvKp izolatlarında siprofloksasin ve trimetoprim sülfametoksazol duyarlılığı cKp izolatlarına göre daha yüksek bulunmuştur.

Dalgıç ve ark.(2023), Kapsül Genotipleri belirledikleri 38 *K.pneumoniae* izolatların antibiyotik duyarlılık sonucunda Biri K1-KP, diğeri K5-KP olmak üzere kolistine dirençli bulunan iki (%5.3) izolat dışında, en düşük direnç %60.5 (23/38) oranı ile gentamisine, en yüksek direnç ise %94.7 (36/38) oranı ile sefotaksime karşı tespit edilmiştir.

Doğanay ve ark. (2023), 230 hastadan izole edilen 423 adet *K. pneumoniae* üzerinde yaptığı çalışmaya göre izolatların tamamı üzerine piperasilin/tazobaktam, seftazidim, meropenem, amikasin, gentamisin, siprofloksasin ve trimetoprim/sülfametoksazol antibiyotiklerinin; %92'sinin üzerine ampisilin, sefuroksim, sefuroksimaksetil, sefoksitin, seftriakson ve ertapenem antibiyotiklerinin; %40-70'i üzerine imipenem, oksasilin, eritromisin, klindamisin ve linezolid antibiyotiklerinin; %30'u üzerine fosfomisin, nitrofurantoin ve sefiksim antibiyotiklerinin son olarak %15'i üzerine amoksisilin/klavulanik asit antibiyotiğinin antibiyogram testi yapılarak direnç profilleri belirlenmiştir.

Çalışmada ele alınan izolatların tamamının antibiyotik duyarlılık yüzdelerine göre, en yüksek oranla direnç gösterilen antibiyotiğin (%84) seftazidim olduğu, duyarlılığın en yüksek olduğu (%30) antibiyotiğin ise amikasin olduğu belirlenmiştir. Çalışmada imipenem antibiyotiğinin 147 izolat üzerine antimikrobiyal etkisi belirlenmiş olmasına rağmen, %59 (n=87 izolat)'luk duyarlılık oranı ile *K. pneumoniae* bakterisinin duyarlı olduğu antibiyotiklerden birisi olduğu söylenebilir. Ayrıca çalışmada izolatların %92'lik kısmı üzerine etkisi incelenen antibiyotiklerden ampisiline karşı yüksek oranda direnç geliştirdiğini bildirmişlerdir.

Hoşbul ve ark.(2022), 150 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* klinik izolatlarıyla yaptığı çalışmada EUCAST kriterlerindeki meropenem duyarlılık sonuçlarına göre 20 izolat “duyarlı (artmış dozda)” olarak tespit edilmiştir. Seftazidim-avibaktam %92.7 ve kolistine %48 duyarlılık oranları bulunmuştur. Çalışmadaki tüm izolatların karbapenem direnç genlerinden en az birisine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Buna rağmen çalışmada, seftazidim-avibaktamın karbapenem dirençli *K.pneumoniae* klinik izolatlarına karşı iyi in vitro etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmada toplam 150 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatının %7.3 oranında seftazidim-avibaktama dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Lee ve ark. (2022), 57 ülkeden 6753 *K. pneumoniae* izolatı ile yaptığı çalışmada 6753 *K. pneumoniae* izolatının tamamı amikasine %89,3, seftazidim/avibaktama %93,7), meropeneme %82,2, meropenem/vaborbaktama %90,3, seftolozan/tazobaktama %74,7 ve tigesikline %96,2 duyarlılık göstermiştir. Çalışmadaki *K. pneumoniae* izolatlarının yalnızca %1,1'i ampisiline duyarlıydı. Diğer antimikrobiyal ajanlar %50,2 ile %79,1 arasında değişen duyarlılıklar gösterdi.

CR-KP, meropeneme dirençli izolatlar olarak tanımlandı. 6753 *K.pneumoniae* izolatının 1118'i CR-KP idi. CR-KP izolatları, tigesiklin hariç tüm antimikrobiyal ajanlara karşı önemli ölçüde azalmış duyarlılık gösterdi: 1044 izolat bu ajana duyarlılığını korudu. Ayrıca, CR-KP izolat duyarlılık oranları sadece seftazidim/avibaktam %63,3, amikasin %44,6 ve meropenem/vaborbaktam %41,5) için > %40 idi. Özellikle kolistine direnç oranı tüm *K. pneumoniae* izolatları için %4,4'ten CR-KP izolatları için %16,3'e yükseldi.

Köle ve ark. (2022), 42 adet *K.pneumoniae* izolatu ile yaptığı çalışmada yapılan sıvı mikrodilüsyon testinin sonuçlarına göre, izolatların 4 (%9.6)'ü seftazidim-avibaktama, 40 (%95.2)'i meropeneme ve 28 (%66.7)'i kolistine karşı dirençli (R) bulunmuştur. İzolatlardan 2 (%4.8)'si meropeneme karşı yüksek dozda duyarlı (I) bulunmuştur.

Doğan ve Uğraklı (2023), 95 *K.pneumoniae* izolatu ile yaptığı çalışmada en duyarlı antibiyotikler sırasıyla tigesiklin (%100), kolistin(%54.7) olurken en dirençli antibiyotikler ampisilin (%100), amoksisilin/klavulanik (%100), seftriakson (%100), sefazolin (%100) ve sefuroksim-aksetil (%100) olarak bulunmuştur. Kombine disk yöntemi ile suşların 20'sinde (%21,05) GSBL üretimi gözlenmiş ve gradyan testi ile sadece 9 (%9,47) izolatu GSBL pozitif olduğu bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda en çok oranda direncin geliştiği antibiyotik ampisilin olarak bulunmuştur. En fazla duyarlılık gösteren antibiyotikler %89 tigesiklin, %84 kolistin% 63 amikasin, %62 gentamisin ve %49 meropenem olurken en düşük duyarlılık %15 sefozolin, %16 amoksisilin/klavulanik asit ve %19 sefuroksim olarak belirlenmiştir. Ayrıca çalışmamızda GSBL oranı % 65 olarak bulunmuştur. Yeni antibiyotiklerden delafloksasin, ceftolozane-tazobactam, meropenem-vaborbactam ve ceftazidime-avibactam sırasıyla %25, %42, %56 ve %62 oranında duyarlılık tespit edilmiştir. Delafloksasin ile Türkiyede yapılan ilk çalışma olmasından dolayı karşılaştırma yapılmamıştır. Yeni antibiyotiklerden en çok duyarlı olarak ceftazidime-avibactam olurken en az duyarlı delafloksasin olarak belirlenmiştir.

Antibiyotik duyarlılık sonuçlarında en etkili antibiyotikler, meropenem, gentamisin, amikasin, kolistin ve tigesiklin bulunurken bizim çalışmamızda da aynı antibiyotikler en duyarlı antibiyotikler olarak bulunmuştur.

Yeni antibiyotiklerle yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçlarımız, benzer çalışmaların sıvı dilüsyon yöntemi ile yapılması ve az olmasından dolayı, oranlarımız düşük olmasına rağmen duyarlılık sıraları benzerdir. En duyarlı antibiyotik ceftazidime-avibactam bulunmuştur. Çalışmamızda bulduğumuz veriler yapılan çalışmalarla uyum göstermektedir.

Süzük Yıldız ve ark.(2021), 493 örnekten 366 adet *K.pneumoniae* izolatları ile yaptığı çalışmada 143 izolatta genotipik olarak en az bir karbapenemaz enzimi tespit edilmiştir.

Tek tip karbapenemaz enzim oranları sırasıyla OXA-48 (%84.6). NDM-1 (%6.3). VIM (%2.8). IMP (%1.4) bulunurken, yedi izolatta ise iki enzim bir arada (OXA-48+NDM-1 (%2.1). OXA-48+VIM (%2.1). VIM+NDM-1 (%0.7)) tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Telli(2022), yaptığı çalışmada, 2012-2020 yılları arasında toplam 291 (%7.5) adet KDKp suşu bulunmuştur. Suşların sahip olduğu direnç genlerinin dağılımı; tek bir direnç genine sahip suşların sayısı OXA- 48, NDM-1, KPC ve VIM sırasıyla, 113 (%38.8), 32 (%11.0), 7 (%2.4), 5 (%1.7) dir. Birden fazla direnç genine sahip suşların dağılımı ise şöyleydi: OXA-48+NDM 123 (%42.3), OXA-48+KPC iki adet, OXA-48+VIM iki adet, NDM+KPC bir adet ve NDM+IMP bir adet olarak bulunduğunu bildirmiştir.

Hoşbul ve ark.(2022), 150 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* klinik izolatlarıyla yaptığı çalışmada Seftazidim-avibaktam dirençli izolatlardan 7 tanesinin sadece blaNDM, bir tanesinin blaOXA-48 ve blaNDM genlerine ve 3 tanesinin blaKPC genine sahip olduğu belirlenmiştir. Beklendiği gibi, MBL üreten izolatlarda seftazidim-avibaktam için yüksek MİK seviyeleri (>128 µg/ml) belirlenmiştir. İzolatların 107 (%71.3)'sinde blaOXA-48, 25 (%16.7)'inde blaKPC, 7 (%4.7)'sinde blaNDM, 10 (%6.7)'unda blaOXA-48 ve blaKPC birlikteliği, 1 (%0.6)'inde blaOXA-48 ve blaNDM birlikteliği saptanmıştır. BlaVIM ve blaIMP genlerine sahip izolat bulunmadığını bildirmişlerdir.

Köle ve ark. (2022), 42 adet *K.pneumoniae* izolatı ile yaptığı çalışmada karbapenem dirençli olduğu saptanan izolatların 34 (%81)'ü yalnızca OXA-48, 5 (%11.9)'i OXA-48+NDM ve 3 (%7.1)'ü OXA-48+KPC pozitif bulunmuştur. İzolatlar arasında yalnızca blaNDM geni veya yalnızca blaKPC geni taşıyan izolat bulunmamıştır. blaIMP ve blaVIM geni taşıyan izolat tespit edilmemiştir.

Lee ve ark. (2022), 57 ülkeden 6753 *K. pneumoniae* izolatı ile yaptığı çalışmada en yaygın A sınıfı karbapenemaz genleri *bla*_{KPC}'ye (n = 412) aitti ve diğer beşi *bla*_{GES-2}'ye aitti . *Bla*_{KPC} genleri arasında *bla*_{KPC-2} (n = 285), *bla*_{KPC-3} (n = 124), *bla*_{KPC-17} (n = 2) ve *bla*_{KPC-tiplendirilemeyen} (n = 1) yer aldı. Benzer şekilde, en yaygın B sınıfı karbapenemaz genleri *bla*_{NDM} (n = 372), *bla*_{VIM}(n = 27) ve *bla*_{IMP}(n = 3) idi.

*Bla*_{NDM} genleri arasında *bla*_{NDM-1}(n = 196), *bla*_{NDM-5}(n = 166), *bla*_{NDM-6}(n=1), *bla*_{NDM-7} (n=7), *bla*_{NDM-9} (n=1) ve *bla*_{NDM-24} (n=1) yer aldı. Sınıf D karbapenemaz genleri arasında *bla*_{OXA-48}(n = 72), *bla*_{OXA-162} (n = 2), *bla*_{OXA-181} (n = 95), *bla*_{OXA-232} (n = 223) ve *bla*_{OXA-370} (n = 3) yer almaktadır.

Özellikle, bazı CR-KP izolatları iki veya daha fazla karbapenemaz kodlayan gen barındırmaktadır. Bunlar arasında *bla*_{KPC} + *bla*_{NDM} + *bla*_{VIM} (2), *bla*_{KPC} + *bla*_{IMP} (1), *bla*_{KPC} + *bla*_{VIM} (14), *bla*_{KPC} + *bla*_{NDM} (15), *bla*_{GES} + *bla*_{NDM} (5), *bla*_{NDM} + *bla*_{OXA}benzeri (157) ve *bla*_{KPC} + *bla*_{OXA} benzeri (2) yer almaktadır.

Yürek ve Cevahir (2022), 100 *K.pneumoniae* izolatı ile yaptığı çalışmada *bla*_{OXA-48} geni karbapenem dirençli 35 izolatın 29 (%82.8)'unda, *bla*_{KPC} geni beşinde (%14.2) pozitif bulunmuştur. *bla*_{KPC} geni pozitif izolatların tümünün aynı zamanda *bla*_{OXA-48} geni de taşıdığı tespit edilmiştir. *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM-1} ve *bla*_{VIM} geni karbapenem dirençli örneklerin hiçbirinde saptanmamıştır. Karbapenem dirençli beş örnekte hem *bla*_{OXA-48} hem de *bla*_{KPC} geni pozitif bulunmuştur. Karbapenem dirençli altı (%17.1) örnekte çalışılan direnç genlerinden hiçbirisi saptanmadığını bildirmişlerdir.

Dalgıç ve ark.(2023), Kapsül Genotipleri belirledikleri 38 *K.pneumoniae* izolatın üçünün (%7.9) *bla*_{CTX-M-1}, 26 (%68.4)'sının *bla*_{OXA-48}-benzeri ve dördünün (%10.5) *bla*_{NDM-1} direnç genlerini barındırdığı görülmüştür. *bla*_{CTX-M-2}, *bla*_{CTX-M-9}, *bla*_{CTX-M-8/25} ve *bla*_{KPC} direnç genleri hiçbir izolatta tespit edilemediğini bildirmişlerdir.

Doğan ve Uğraklı (2023), 95 *K.pneumoniae* izolatı ile yaptığı çalışmada en sık saptanan karbapenemaz OXA-48 (%93,7) idi. *bla*_{OXA-48} 56 (%59) izolatta tek başına, 33 (%34,7) izolatta ise *bla*_{OXA-181} genleriyle birlikte gösterildi. OXA-48 pozitif izolatlarda (n=56) kolistinin MİK50 değerleri 0,5 mg/L olmasına rağmen, kolistin MİK50'si OXA-48+OXA-181'in (n=33) birlikteliğinde 16 mg/L olarak belirlendi. *bla*_{NDM-1} geni izolatların 3'ünde (%3,2) saptandı. Kolistin plazmid aracılı direnç geni (*mcr-1*), *IMP*, *VIM* ve *KPC* karbapenemaz direnç genleri de izolatların hiçbirinde saptanmadı.

Bu çalışmada 88 izolatta karbapenemaz enziminin varlığı ve 3 izolatta ESBL+porin kaybı fenotipik karbapenemaz kombinasyon disk testi ile belirlendi. 4 izolatta kombine disklerle karbapenemaz enzimi saptanmadı. Kombinasyon testlerinde karbapenemaz tiplerinden 83'ünün OXA-48 taşıdığı, 2'sinin *KPC*'ye ve 3'ünün *MBL* direnç genine sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Çalışmamızda 35 tane OXA-48, 13 tane *NDM* ve 4 tane *KPC* direnç genleri tespit edilirken, *IMP* ve *VIM* direnç genleri hiçbir izolatta tespit edilememiştir. 12 izolatta OXA-48 ve *NDM* direnç genlerinin ikisinde tespit edilmiştir.

Direnç genleri oranlarımız diğer çalışmalarla yakınlık göstermektedir. Son zamanlarda Türkiyede yapılan çalışmalarda OXA-48 direnç geni oranları (%38-%83), NDM direnç geni oranları (%3-%11) arasında KPC direnç geni oranları (%2-17) iken bizim çalışmamızda OXA-48 direnç geni oranı %35 oranında, NDM direnç geni oranı (% 13) ve KPC direnç geni oranı (%4) ile diğer çalışmalara benzer oranda bulunmuştur. Bulduğumuz sonuçlar yapılan çalışmalara yakınlık göstermektedir.

Farhood ve Chelab (2021), 10 adet *K. pneumoniae* izolatında QS genlerini belirlediği çalışmada 10 adet *K. pneumoniae* izolatın 9'unda bu genleri tespit ettiğini bildirmiştir. Çalışmamızda 100 adet *K. pneumoniae* izolatlarında QS genlerinden LuxS geninden 98 tane, LsrR geninden 98 tane ve LsrK geninden 97 tane tespit edilmiştir.

Klebsiella pneumoniae üzerinde QS genleri ile fazla çalışma bulunmamasına rağmen benzer bir çalışma ile karşılaştığımızda LuxS, LsrR ve LsrK geni benzer oranda tespit edilmiştir. QS genleri (LuxS, LsrR, LsrK) ve direnç genlerinin (OXA-48, NDM) pozitif ve negatif olanları arasında yaptığımız ekspresyon çalışması sonuçları tablo 4.8. de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır.

K. Pneumoniae QS genleri ve direnç genleri ile alakalı fazla çalışma olmadığından ilerideki yapılacak çalışmalara baz olacağını düşünmekteyiz.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuç

Çalışmamızda *K. pneumoniae* bakterisinde antibiyotik tedavisine ışık tutması açısından antibiyotik duyarlılık sonuçları bildirilmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında hastanemizde özellikle yoğun bakım servislerinden gelen numunelerde üreyen *K. pneumoniae* bakterilerinin karbapenemlerde direncin giderek arttığı hatta kolistin ve tigesiklin antibiyotiklerine bile direnç geliştirdiğini belirledik. Yeni antibiyotiklerden delafloksasin, ceftolozane-tazobactam, meropenem-vaborbactam ve ceftazidime-avibactam antibiyotiklerine de karbapenemler oranında dirençler tespit edilmiştir. Karbapenem dirençli bakterilerin tedavisi için, yeni geliştirilen seftazidim-avibaktam, ceftolozane-tazobactam, meropenem-vaborbactamve delafloksasin gibi yeni antibiyotiklerin, tedavide kullanımında ciddi bir engel olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışmamızda direnç genleri olarak OXA-48, NDM ve KPC direnç genleri tespit ettik bunlar Türkiye’de dirençli şuşlarda gelişen direnç genleri olarak bildirilmektedir. Direnç genlerinin artması *K. pneumoniae* bakterisindeki antibiyotik dirençliliğinin arttığını göstermektedir. Bu alanda direnci artıran farklı genler açısından daha çok çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

6.2. Öneriler

Bu sebeplerle, *K pneumoniae* suşlarında düzenli şekilde, bölgesel ve ulusal olarak antibiyotik duyarlılık testlerinin ve direnç mekanizmalarının araştırmalarının yapılmasının, bu bakteriye bağlı enfeksiyonların tedavisinde ve direncin kontrolünde hekimlere tedavide yardımcı ve yol gösterici olacağını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, *K pneumoniae* bakterisinin antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç oranları giderek artmakta ve çeşitlilik göstermektedir. Bu durum yeni tedavi ve korunma seçeneklerinin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Çalışmamız Türkiye’de *K.pneumoniae* izolatlarında QS mekanizması ve beta-laktamaz direnç genlerinin ilişkisinin araştırıldığı ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Bu açıdan QS genleri ve direnç genleri arasındaki ilişkiyi aydınlatmaya yönelik olan çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir. QS genleri barındıran suşların çok yüksek oranlarda çıkması, QS inhibitörleri ile antibiyotik kombinasyonları için duyarlılık çalışmalarının yapılabileceğini düşündürmektedir. Bu alanda yeni çalışmaların planlanması gerektiği düşünülmektedir.



7. KAYNAKLAR

- Al-Bayati, M., & Samarasinghe, S. (2022). Biofilm and gene expression characteristics of the carbapenem-resistant enterobacteriales, *Escherichia coli* imp, and *Klebsiella pneumoniae* ndm-1 associated with common bacterial infections. *International journal of environmental research and public health*, 19(8), 4788. <https://doi.org/10.3390/ijerph19084788>
- Amani, I., Salehi M.S., Mansour, F. N. (2020). Frequency of prevalence of *klebsiella pneumoniae* in clinical samples and the evaluation of the role of efflux pump in determining antibiotic resistance. *Khazar Journal of Science and Technology*, 4(1), 41-64. <https://doi.org/10.5782/2520-6133.2020.4.1.41>
- Ashurst, J. V., & Dawson, A. (2023). *Klebsiella pneumoniae*. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Bai, R., & Guo, J. (2024). Interactions and implications of *klebsiella pneumoniae* with human immune responses and metabolic pathways: a comprehensive review. *Infection and drug resistance*, 17, 449–462. <https://doi.org/10.2147/IDR.S451013>
- Balestrino, D., Haagensen, J. A., Rich, C., & Forestier, C. (2005). Characterization of type 2 quorum sensing in *klebsiella pneumoniae* and relationship with biofilm formation. *Journal of bacteriology*, 187(8), 2870–2880. <https://doi.org/10.1128/JB.187.8.2870-2880.2005>
- Bektaş, A., Güdücüoğlu, H., Gürsoy, N. C., Berkeş, M., Gültepe, B. S., et al. (2018). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (gsbl) üreten *escherichia coli* ve *klebsiella pneumoniae* suşlarının gsbl genlerinin araştırılması. *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 23(3), 116-123. doi.org/10.5578/flora.67296
- Bilgehan, H. (2000). *Klinik mikrobiyoloji özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları (Uygulama konuları ile)*. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi.
- Bozkaya, E.(ed.) (2005). *Tıbbi Mikrobiyoloji-2*. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Bradford P. A. (2001). Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical microbiology reviews*, 14(4), 933–951. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>
- Carniel E. (2001). The Yersinia high-pathogenicity island: An iron-uptake island. *Microbes and infection*, 3(7), 561–569. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(01\)01412-5](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(01)01412-5)
- Chang, D., Sharma, L., Dela Cruz, C. S., & Zhang, D. (2021). Clinical epidemiology, risk factors, and control strategies of *Klebsiella pneumoniae* infection. *Frontiers in microbiology*, 12, 750662. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.750662>
- Chen, L., Wilksch, J. J., Liu, H., Zhang, X., Torres, V. V. L., et al. (2020). Investigation of LuxS-mediated quorum sensing in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of medical microbiology*, 69(3), 402–413. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001148>
- Coşkun, U. S. Ş. (2018). Kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklar. *Ankem Dergisi*, 32(2), 45-52. [Doi.Org/10.5222/Ankem.2018.045](https://doi.org/10.5222/Ankem.2018.045)
- Dağlar, D., & Öngüt, G. (2012). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar gsbl ve tanı yöntemleri. *Annals of Health Sciences Research*, 1(1), 1-9.
- Dalğıç, D., Kandemir, T., Üçkayabaşı, A., Nagıyev, T. (2023). *Klebsiella pneumoniae* hipervirülen kapsül genotiplerinin antibiyotik duyarlılığı ve beta-laktamaz genleri ile ilişkisi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 57(1), 30-44.
- Di Martino, P., Cafferini, N., Joly, B., & Darfeuille-Michaud, A. (2003). *Klebsiella pneumoniae* type 3 pili facilitate adherence and biofilm formation on abiotic surfaces. *Research in microbiology*, 154(1), 9–16. [https://doi.org/10.1016/s0923-2508\(02\)00004-9](https://doi.org/10.1016/s0923-2508(02)00004-9)
- Doğan, M., & Ugraklı, S. (2023). Phenotypic and genotypic identification of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and determination of antibiotic susceptibility. *Selçuk University Medical Journal*, 39(2), 75-83. <https://doi.org/10.30733/std.2023.01639>
- Doğanay, D., Aydın, M., & Avşar, İ. S. (2023). Farklı klinik örneklerden izole edilmiş *klebsiella pneumoniae* izolatlarının antibiyotik direnç profilinin incelenmesi: covid-19 pandemisi sürecindeki bir yıllık veriler. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 47(1), 185-195. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1181432>

- El Fertas-Aissani, R., Messai, Y., Alouache, S., & Bakour, R. (2013). Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. *Pathologie-biologie*, 61(5), 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2012.10.004>
- Farhood, A.H., & Chelab, R.L. (2021). Detection of the presence of quorum sensing genes in clinical samples of *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 8(6), 165-174
- Filik, N., & Kubilay A. (2019). *Yersinia ruckeri* suşlarında çevreyi algılama sistemi ve yönetimindeki virülans faktörlerinin araştırılması. *Acta aquatica turcica*, 15(3), 391-403. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.537802>
- Herridge, W. P., Shibu, P., O'Shea, J., Brook, T. C., & Hoyles, L. (2020). Bacteriophages of *Klebsiella* spp., their diversity and potential therapeutic uses. *Journal of medical microbiology*, 69(2), 176–194. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001141>
- Holden, V. I., & Bachman, M. A. (2015). Diverging roles of bacterial siderophores during infection. *Metallomics : integrated biometal science*, 7(6), 986–995. <https://doi.org/10.1039/c4mt00333k>
- Hoşbul, T., Aydoğan, C. N., Kaya, S., Bedir, O., Gümrallı, R., et al. (2022). Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* klinik izolatlarına karşı seftazidim-avibaktam ve kolistin in vitro etkinliği. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 56. 218-229. [10.5578/mb.20229803](https://doi.org/10.5578/mb.20229803).
- Huang, C., Tao, S., Yuan, J., & Li, X. (2022). Effect of sodium hypochlorite on biofilm of *Klebsiella pneumoniae* with different drug resistance. *American journal of infection control*, 50(8), 922–928. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2021.12.003>
- Johnson L. R. (2008). Microcolony and biofilm formation as a survival strategy for bacteria. *Journal of theoretical biology*, 251(1), 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2007.10.039>
- Kahraman, E. P., Karakeçe, E., Erdoğan, F., Uluyurt, H., Köroğlu, M., et al. (2017). *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının antibiyotiklere direnç durumlarının değerlendirilmesi. *Ortadoğu Tıp Dergisi*, 9(1), 12 - 18.
- Karampatakis, T., Tsergouli, K., & Behzadi, P. (2023). Carbapenem-resistant *klebsiella pneumoniae*: virulence factors, molecular epidemiology and latest updates in treatment options. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(2), 234. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020234>
- Kot, B., Piechota, M., Szweida, P. et al. (2023). Virulence analysis and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolates from hospitalised patients in Poland. *Sci Rep* 13, 4448 <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31086-w>
- Köle, M., Sesli Çetin, E., Şirin, M. C., & Cicioğlu Arıdoğan, B. (2022). Seftazidim-avibaktam, meropenem ve kolistin tek başına ve ikili kombinasyonlarının çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli *klebsiella pneumoniae* suşlarına karşı in vitro etkinliğinin araştırılması [evaluation of in vitro efficacy of ceftazidime-avibactam, meropenem, and colistin single and binary combinations against carbapenem resistant *klebsiella pneumoniae* strains isolated from various clinical specimens]. *Mikrobiyoloji bülteni*, 56(2), 230–250. <https://doi.org/10.5578/mb.20229804>
- Kula Atik, T., Uzun, B. (2020) Kan kültürlerinden izole edilen Enterobacteriaceae türlerinin antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. *ANKEM Dergisi*. 34(2), 33-40.
- Lawlor, M. S., Hsu, J., Rick, P. D., & Miller, V. L. (2005). Identification of *Klebsiella pneumoniae* virulence determinants using an intranasal infection model. *Molecular microbiology*, 58(4), 1054–1073. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04918.x>
- Lawlor, M. S., O'connor, C., & Miller, V. L. (2007). Yersiniabactin is a virulence factor for *Klebsiella pneumoniae* during pulmonary infection. *Infection and immunity*, 75(3), 1463–1472. <https://doi.org/10.1128/IAI.00372-06>
- Lee, Y. L., Ko, W. C., & Hsueh, P. R. (2022). Geographic patterns of global isolates of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and the activity of ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam, and comparators against these isolates: Results from the Antimicrobial testing leadership and surveillance (ATLAS) program, 2020. *International journal of antimicrobial agents*, 60(5-6), 106679. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2022.106679>
- Li, Y. H., & Tian, X. (2012). Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 12(3), 2519–2538. <https://doi.org/10.3390/s120302519>

- Li, Y., Kumar, S., Zhang, L., Wu, H., & Wu, H. (2023). Characteristics of antibiotic resistance mechanisms and genes of *Klebsiella pneumoniae*. *Open medicine (Warsaw, Poland)*, 18(1), 20230707. <https://doi.org/10.1515/med-2023-0707>
- Li, Y., & Ni, M. (2023). Regulation of biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in microbiology*, 14, 1238482. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1238482>
- Lourenço, M., Osbelt, L., Passet, V., Gravey, F., Megrian, D., et al. (2023). Phages against noncapsulated *Klebsiella pneumoniae*: Broader host range, slower resistance. *Microbiology spectrum*, 11(4), e0481222. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04812-22>
- Livermore D. M. (1995). Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical microbiology reviews*, 8(4), 557–584. <https://doi.org/10.1128/CMR.8.4.557>
- Martin, R. M., & Bachman, M. A. (2018). Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 8, 4. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00004>
- Martin, R. M., Cao, J., Brisse, S., Passet, V., Wu, W., et al. (2016). Molecular epidemiology of colonizing and infecting isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere*, 1(5), e00261-16. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00261-16>
- Mason, S., Vornhagen, J., Smith, S. N., Mike, L. A., Mobley, H. L. T., et al. (2023). The *Klebsiella pneumoniae ter* operon enhances stress tolerance. *Infection and immunity*, 91(2), e0055922. <https://doi.org/10.1128/iai.00559-22>
- Merciecca, T., Bornes, S., Nakusi, L., Theil, S., Rendueles, O., et al. (2022). Role of *Klebsiella pneumoniae* type VI secretion system (T6SS) in long-term gastrointestinal colonization. *Scientific reports*, 12(1), 16968. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21396-w>
- Miethke, M., & Marahiel, M. A. (2007). Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 71(3), 413–451. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00012-07>
- Murphy, C. N., Mortensen, M. S., Krogfelt, K. A., & Clegg, S. (2013). 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*, 81(8), 3009–3017. <https://doi.org/10.1128/IAI.00348-13>
- Navon-Venezia, S., Kondratyeva, K., & Carattoli, A. (2017). *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. *FEMS microbiology reviews*, 41(3), 252–275. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux013>
- Paczosa, M. K., & Meccas, J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: Going on the offense with a strong defense. *Microbiology and molecular biology reviews:MMBR*, 80(3), 629–661. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00078-15>
- Patro, L. P. P., & Rathinavelan, T. (2019). Targeting the sugary armor of *Klebsiella* species. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 367. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00367>
- Piperaki, E. T., Syrogiannopoulos, G. A., Tzouveleki, L. S., & Daikos, G. L. (2017). *Klebsiella pneumoniae*: virulence, biofilm and antimicrobial resistance. *The Pediatric infectious disease journal*, 36(10), 1002–1005. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000001675>
- Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical microbiology reviews*, 11(4), 589–603. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.4.589>
- Reyes, J., Aguilar, A. C., & Caicedo, A. (2019). Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Microbiology key points for clinical practice. *International journal of general medicine*, 12, 437–446. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S214305>
- Rutherford, S. T., & Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(11), a012427. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012427>
- Schembri, M. A., Blom, J., Krogfelt, K. A., & Klemm, P. (2005). Capsule and fimbria interaction in *Klebsiella pneumoniae*. *Infection and immunity*, 73(8), 4626–4633. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.8.4626-4633.2005>

- Shaaban, M., Elgaml, A., & Habib, E. E. (2019). Biotechnological applications of quorum sensing inhibition as novel therapeutic strategies for multidrug resistant pathogens. *Microbial pathogenesis*, 127, 138–143. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.11.043>
- Sharma, A., Thakur, A., Thakur, N., Kumar, V., Chauhan, A., et al. (2023). Changing trend in the antibiotic resistance pattern of Klebsiella Pneumonia isolated from endotracheal aspirate samples of ICU patients of a tertiary care hospital in North India. *Cureus*, 15(3), e36317. <https://doi.org/10.7759/cureus.36317>
- Smith K. D. (2007). Iron metabolism at the host pathogen interface: lipocalin 2 and the pathogen-associated iroA gene cluster. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(10), 1776–1780. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2007.07.003>
- Struve, C., Bojer, M., & Krogfelt, K. A. (2008). Characterization of Klebsiella pneumoniae type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and infection and impact on virulence. *Infection and immunity*, 76(9), 4055–4065. <https://doi.org/10.1128/IAI.00494-08>
- Suzuk Yildiz, S., Simsek, H., Bakkaloglu, Z., Numanoglu Cevik, Y., Hekimoglu, H. H., et al. (2021). The epidemiology of carbapenemases in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated in 2019 in Turkey. *Mikrobiyoloji Bulteni*, vol.55, no.1, 1-16.
- Tang, M., Wei, X., Wan, X., Ding, Z., Ding, Y., et al. (2020). The role and relationship with efflux pump of biofilm formation in Klebsiella pneumoniae. *Microbial pathogenesis*, 147, 104244. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104244>
- Telli, M. (2022). Klebsiella pneumoniae klinik suşlarında, 2012-2020 yılları arasında karbapenem direnç oranlarındaki değişimin ve direnç genlerinin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 52(2), 95-102. doi:10.54453/TMCD.2022.05025
- Temiz, H., Özbek, E., Vural, D. G., Özekinci, T. (2015). Klebsiella izolatlarının antimikrobiyal direnç oranlarının değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 45(2), 68 - 74.
- Terzi H. A., Karakeçe, E., Çiftci, İ. H.. (2013) Klebsiella spp. izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirmesi. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2 68–71.
- Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., & Wang, H. (2020). The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *International journal of environmental research and public health*, 17(17), 6278. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176278>
- Wilke, M. S., Lovering, A. L., & Strynadka, N. C. (2005). Beta-lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Current opinion in microbiology*, 8(5), 525–533. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.08.016>
- Worthington, R. J., & Melander, C. (2013). Overcoming resistance to β -lactam antibiotics. *The Journal of organic chemistry*, 78(9), 4207–4213. <https://doi.org/10.1021/jo400236f>
- Wyres, K. L., Lam, M. M. C., & Holt, K. E. (2020). Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nature reviews Microbiology*, 18(6), 344–359. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0315-1>
- Xu, L., Sun, X., & Ma, X. (2017). Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 16(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s12941-017-0191-3>
- Yeniçeri, M. (2018). Bakterilerde quorum sensing ve antimikrobiyal dirence olan etkisi. *Institute of Health Sciences Journal*, 3(1), 41-45.
- Yılmaz, E., & Uraz, G. (2011). Klebsiella pneumoniae Ve Klebsiella oxytoca Bakterilerinde Kombine Disk Yöntemi İle Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazın Belirlenmesi. *Sakarya University Journal of Science*, 15(1), 41-45. <https://doi.org/10.16984/saufbed.63774>
- Yin, W. F., Purmal, K., Chin, S., Chan, X. Y., Koh, C. L., et al. (2012). N-acyl homoserine lactone production by *Klebsiella pneumoniae* isolated from human tongue surface. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 12(3), 3472–3483. <https://doi.org/10.3390/s120303472>
- Yürek, M., & Cevahir, N., (2022). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen hipervirülen ve klasik *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında virülans genleri ve karbapenem direnç genlerinin araştırılması . *XL. Uluslararası Türk Mikrobiyoloji Kongresi*

8. EKLER

8.1.EK 1 Etik Kurul Kararı

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ DIŞI ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Toplantı Sayısı: 166

Toplantı Tarihi: 16 Aralık 2022

Karar Sayısı:2022/4075:(12211)N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Metin DOĞAN'ın "**Klebsiella pneumoniae Klinik Suşlarında Beta-laktam Antibiyotik Direnç Genlerinin ve Quorum Sensing Arasındaki İlişkinin Araştırılması**" başlıklı doktora tez çalışması ile ilgili 01.12.2022 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü, Muhammet Şükrü AĞRALI'nın doktora tez çalışmasının N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Metin DOĞAN'ın sorumluluğunda bütçe desteğinin sağlandığına dair belgenin İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kuruluna sunulduktan sonra çalışmanın başlamasının uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Not: Çalışma ile ilgili gerekli izinlerin alınması ve yasal sorumluluk araştırmacılara aittir.

Sorumlu Araştırmacı: Prof. Dr. Metin DOĞAN

Yardımcı Araştırmacı: Muhammet Şükrü AĞRALI

ASLI GİBİDİR
16.12.2022

Prof. Dr. Saim AÇIKGÖZOĞLU
İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurul Başkanı