



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK
ANABİLİM DALI

**KLİNİK *Klebsiella pneumoniae* İZOLATLARINDA
VİRÜLANS GENLERİN BELİRLENMESİ**

SAHİB ABBAS WAHHAB AL-KUBAISI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR / 2022



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK
ANABİLİM DALI

**KLİNİK *Klebsiella pneumoniae* İZOLATLARINDA
VİRÜLANS GENLERİN BELİRLENMESİ**

SAHİB ABBAS WAHHAB AL-KUBAISI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Elif SEVİM**

KIRŞEHİR / 2022

Bu çalışma 22.12.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Elif SEVİM
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi Fakültesi

Dr. Öğr. Üyesi Alican BİLDEN
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

SAHIB ABBAS WAHHAB AL-KUBAISI



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.



ÖNSÖZ

Yüksek Lisansa başlamamda ve yüksek lisans ders sürecinde kendisini tanıdığım günden bu yana gösterdiği sakin ve sabırlı hali ile her zaman bana örnek olmasının yanı sıra bir bilim adamının nasıl çalışması gerektiğini kendisinden öğrendiğim değerli danışmanım Prof. Dr. Elif SEVİM'e büyük bir içtenlikle teşekkür ederim. Tezimin her aşamasında gerek sorularıyla, gerekse laboratuvar imkanları ile yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ali SEVİM'e, başta Yüksek Lisans öğrencisi Ömer KARAKAMIŞ ve Yüksek Lisans öğrencisi M. Fatih KARASU olmak üzere laboratuvarda çalışan tüm arkadaşlarıma en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Tüm tez sürem boyunca destekleri ile yanımda olan aileme teşekkür ederim.

Aralık, 2022

SAHIB ABBAS WAHHAB AL-KUBAISI

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Amaç.....	2
1.2. Önem.....	2
2. GENEL KISIMLAR.....	4
2.1. ESKAPE Patojenler.....	4
2.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	4
2.3. <i>K. pneumoniae</i> Virülans Faktörleri.....	6
2.3.1. Kapsül.....	7
2.3.2. Lipopolisakkarit (LPS).....	10
2.3.3. Fimbria.....	12
2.3.3.1. Tip 1 Fimbria.....	12
2.3.3.2. Tip 3 Fimbria.....	13
2.3.4. Sideroforlar.....	14
2.3.4.1. Enterobaktin.....	16
2.3.4.2. Salmoklein.....	16
2.3.4.3. Yersiniabaktin.....	17
2.3.4.4. Aerobaktin.....	18
2.3.5. Azot Kaynağı Kullanımı.....	119
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal.....	20
3.1.1. Kimyasallar ve Besiyerleri.....	20

3.1.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> İzolatları	20
3.1.3. Primerler	20
3.2. Yöntem	23
3.2.1. İzolatlardan Total DNA İzolasyonu	23
3.2.2. Hiper mukoviskozitenin Belirlenmesi	23
3.2.3. <i>K. pneumoniae</i> Virülans Genlerin PZR ile Belirlenmesi	23
3.2.4. <i>K. pneumoniae</i> İzolatlarının Kapsül Serotipinin Belirlenmesi	24
4. BULGULAR.....	25
4.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> İzolatları.....	25
4.2. Hiper mukoviskozite	26
4.3. <i>K. pneumoniae</i> İzolatlarından Virülans Gen İçeriği	27
4.3.1. Ekstrasellüler Kapsül Genleri	27
4.3.2. Lipopolisakkarit (LPS) Genleri	27
4.3.3. Siderofor Genleri	27
4.3.4. Fimbria Genleri	28
4.3.5. Nitrojen (Azot Kaynağı) Metabolizması Virülans Genleri	28
4.4. <i>K. pneumoniae</i> İzolatlarının Kapsül Tipi	28
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	30
KAYNAKLAR.....	37
ÖZGEÇMİŞ.....	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Klasik ve hipervirülant <i>K. pneumoniae</i> (<i>Kp</i>) suşlarında virülans faktörleri.....	7
Şekil 2.2. <i>K. pneumoniae</i> virülansında kapsülün rolü.....	8
Şekil 2.3. Kapsül biyosentezinden sorumlu düzenleyici ve <i>cps</i> lokusundaki genler.....	9
Şekil 2.4. LPS yapısı.....	11
Şekil 2.5. Tip 1 fimbrianın yapısı	13
Şekil 2.6. Tip 3 fimbria yapısı ve gen lokusu	14
Şekil 2.7. <i>K. pneumoniae</i> 'de siderofor üretimi.....	15
Şekil 2.8. <i>iroA</i> gen lokusu	16
Şekil 2.9. <i>K. pneumoniae</i> KpRR2'nin ICEKp elementi üzerindeki yersininabaktin siderofor biyosentezinden sorumlu gen kümesi.....	17
Şekil 2.10. <i>K. pneumoniae</i> 'de hipervirülans ile ilişkili virülans plazmitleri	18
Şekil 2.11. <i>K. pneumoniae</i> üre operonunun genetik organizasyonu.....	19
Şekil 4.1. <i>K. pneumoniae</i> Kp12 izolatında string testi.....	27
Şekil 4.2. <i>K. pneumoniae</i> virülans genlerinin agaroz jel görüntüsü	28

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan primerler	21
Tablo 4.1. <i>K. pneumoniae</i> izolatlarının özellikleri ve antibiyotik direnç profilleri.....	26
Tablo 4.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> izolatlarının virülans gen içeriği.....	29



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
U	: Unit
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
nm	: Nanomol
pmol	: Pikomol
bp	: Baz çifti
µm	: Mikrometre
mm	: Milimetre
sn	: Saniye
dk	: Dakika
%	: Yüzde
°C	: Santigrad derece
g	:bağlı mekezkaç kuvveti
rpm	: dakika devir sayısı
V	: Volt

Kısaltmalar	Açıklama
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
U.V	: Ultra Viyole
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
LPS	: Lipopolisakkarit
hmv	: hipermukoviskozite
hvKP	: hipervirülant <i>Klebsiella pneumoniae</i>
kKP	: klasik <i>Klebsiella pneumoniae</i>

ÖZET

YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZİ

KLİNİK *Klebsiella pneumoniae* İZOLATLARINDA VİRÜLANS GENLERİN BELİRLENMESİ

SAHİB ABBAS WAHHAB AL-KUBAISI

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Elif SEVİM

Klebsiella pneumoniae, memelilerin mukozal yüzeylerinde ve çevrede yaygın olarak (toprak, su vb.) bulunan Gram negatif kapsüllü bir bakteridir. İnsanlarda, bu bakteri gastrointestinal sistemde ve daha seyrek olarak nazofarenkste kolonize olur ve buradan dolaşıma girerek diğer dokuları enfekte edebilir. Patojenik *K. pneumoniae* suşları, idrar yolu, solunum yolu ve kan enfeksiyonları dahil olmak üzere çok çeşitli bulaşıcı hastalıklara neden olma potansiyeline sahiptir. Bu bakteri aynı zamanda patojenitesine katkıda bulunan farklı virülans faktörlerine sahiptir. Konakçı savunmalarının üstesinden gelmelerini sağlayan kapsüller, fimbrialar, lipopolisakkaritler (LPS) ve sideroforlar bu virülans faktörlerinden en önemlileridir. Çalışmamızda klinik örneklerden izole edilen ve Vitek-2 otomatize sistem ile *K. pneumoniae* olarak tanımlanan 24 adet izolat Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarı stoklarından alınmıştır. İzolatların total DNA'ları kaynatma yöntemi ile izole edilmiştir. İzolatların kapsül oluşumu ile ilgili *rmpA*, *magA* ve *wcaG* genleri, LPS ile ilgili *uge* ve *wabG* genleri, tip-I ve Tip-II fimbria ile ilişkili *fimH* ve *mrkD* genleri, nitrojen mekanizması ile ilgili *ureA* ve *allS* genleri ve siderofor üretimi ile

ilgili *iutA*, *iroD*, *ybtA* ve *entB* genlerinin varlığı ve kapsül serotipleri spesifik primerler kullanılarak PZR yardımı ile araştırılmıştır. Bunun yanı sıra izolatların hipermukoviskozite (hmv) özelliği string test ile fenotipik olarak belirlendi. Gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda sadece Kp12 izolatının hmv özelliğine sahip olduğu tespit edildi. Gerçekleştirilen PZR çalışmaları sonucunda izolatların tamamında *wabG* ve *uge* genlerini, % 96 (23/24)'sında *entB* geni, %87,5 (21/24)'inde *mrkD* ve *ureA* genleri, %62,5 (15/24)'inde *ybtA* geni, %8 (2/24)'inde *allS* geni ve %4 (1/24)'ünde *rmpA* geni tespit edilmiştir. Buna karşın hiçbir izolatta *wcaG*, *magA*, *iutA*, *iroD* ve *fimH* genleri ve kapsül tespit edilememiştir. Enfeksiyon etkeni *K.pneumoniae* izolatlarında kapsül, LPS yapı, adezinler, sideroforlar ve hispermuskovizkozite özelliği bu izolatların patojenitelerinin temelini oluşturmaktadır. *K.pneumoniae*'ya bağlı enfeksiyonların kontrolünde antibiyotik direncinin yanı sıra bu virülans faktörlerinin sürekli takibi bu bakteri tarafından neden olunan enfeksiyonların önlenmesi, teşhisi ve tedavisinde yeni stratejiler geliştirmeye yardımcı olabilir.

Aralık 2022, 60 sayfa

Anahtar Kelimeler: *K. pneumoniae*, virülans genler, hipermukoviskozite, kapsül serotipi

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

DETERMINATION OF VIRULANCE GENES IN CLINICAL *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ISOLATES

SAHIB ABBAS WAHHAB

Kırşehir Ahi Evran University

Graduate School of Sciences and Engineering

Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Prof. Dr. Elif SEVİM

Klebsiella pneumoniae is a Gram-negative bacterium which has capsule and was found on the mucosal surfaces of mammals and commonly in the environment (soil, water, etc.). In humans, *K. pneumoniae* colonizes in the gastrointestinal tract and, less frequently, in the nasopharynx, and infects other tissues by entering circulation system. Pathogenic strains of *K. pneumoniae* have the potential to cause a wide range of infectious diseases, including urinary tract, respiratory tract, and blood infections. This bacterium has also different virulence factors that contribute to its pathogenicity. Capsules which allow them to overcome host defenses, fimbria, lipopolysaccharides (LPS) and siderophores are the most important of these virulence factors. In our study, 24 isolates isolated from clinical samples and identified as *K. pneumoniae* with Vitek-2 automated system were taken from Kırşehir Ahi Evran University Training and Research Hospital, Medical Microbiology laboratory stocks. The total DNA of the isolates was extracted by the boiling method. The presence of *rmpA*, *magA* and *wcaG* genes related to the capsule formation, *uge* and *wabG* genes related to LPS, type I and Type-II fimbria-related *fimH* and *mrkD* genes, *ureA* and *allS* genes related to nitrogen mechanism, *iutA*, *iroD* *ybtA* and *entB* genes related to siderophore production and capsule serotypes of

the isolates were investigated by PCR using specific primers. In addition, the hypermucoviscosity (hmv) properties of the isolates were phenotypically determined by string test. As a result of the studies, only isolate Kp12 was found to show hmv feature. As a result of the PCRs, *wabG* and *uge* genes were detected in all isolates, *entB* gene in 96% (23/24), *mrkD* and *ureA* genes in 87.5% (21/24), *ybtA* gene in 62.5% (15/ 24), *allS* gene in 8% (2/24) and *rmpA* gene in 4% (1/24). However, *wcaG*, *magA*, *iutA*, *iroD* and *fimH* genes and capsules were not detected in any isolate. In the infectious agent *K.pneumoniae* isolates, capsule, LPS structure, adhesins, siderophores and hypermucoviscosity feature form the basis of the pathogenicity of these isolates. Continuous monitoring of antibiotic resistance as well as these virulence factors in the control of infections caused by *K. pneumoniae*, may help developing new strategies in the prevention, diagnosis, and treatment of infections caused by this bacterium.

December 2022, 60 Pages

Keywords: *K. pneumoniae*, virulence genes, hypermuscoviscosity, capsule serotype

1. GİRİŞ

Klebsiella pneumoniae Enterobacteriaceae familyasına ait Gram negatif bir bakteridir. Bu bakteriler hem toprak hem de su ortamlarında bulunur, ancak insanlar tipik olarak *K. pneumoniae* enfeksiyonları için birincil rezervuar olarak kabul edilirler. *K. pneumoniae* başlangıçta 100 yıl önce bir patojen olarak tanımlandı. İlk olarak, en sık bağışıklığı baskılanmış bireylerle ilişkili toplum kökenli bir pnömoni olan Freidlander pnömonisinden sorumlu bakteri olarak tanımlandı. Geçmişten günümüze kadar geçen sürede *K. pneumoniae* dünya çapında önde gelen hastane patojeni haline geldi. Raporlar, *K. pneumoniae*'nin tüm hastane enfeksiyonlarının % 8'inden sorumlu olduğunu tahmin etmektedir (Murphy ve Clegg, 2012).

K. pneumoniae, pnömoniler, idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemiler ve karaciğer apseleri dahil olmak üzere çok çeşitli enfeksiyonlara neden olur. Tarihsel olarak, *K. pneumoniae* öncelikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde ciddi enfeksiyonlara neden olmuştur (Paczosa ve Mecsas, 2016). İlk olarak 1980'lerde Tayvan'da endoftalmi ile birlikte karaciğer apsesine neden olan benzersiz bir *K. pneumoniae* vakası rapor edildi ve etken organizma hipervirulent *K. pneumoniae* (hvKP) olarak belirlendi (Liu ve ark., 1986). O zamandan beri, hvKP klasik *K. pneumoniae*'ye (kKP) göre sahip olduğu hipervirülans nedeniyle yüksek patojenite ve mortalite ile ilişkili başka bir patotip olarak kabul edildi (Lan ve ark., 2020). Ancak son zamanlarda hipervirulent suşların ortaya çıkması ve yayılması, enfeksiyonlara duyarlı kişilerin sayısını sağlıklı ve bağışıklığı yeterli olanları içerecek şekilde genişletmiştir. Ayrıca, *K. pneumoniae* suşları antibiyotiklere karşı giderek daha dirençli hale geldi ve bu suşların neden olduğu enfeksiyonu tedavi etmeyi çok zor hale getirdi. Hipervirulent ve antibiyotiğe dirençli suşların ortaya çıkması bu durumu daha da kötü bir hale getirdi (Paczosa ve Mecsas, 2016). Bu patotip özelliği kendisine ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri) patojenleri arasında bir yer kazandırdı (Russo ve Marr, 2019).

K. pneumoniae'de kapsül, lipopolisakkarit, fimbria ve sideroforları içeren dört faktör iyi çalışılmış ve karakterize edilmiş virülans faktörleridir. Bunun yanı sıra *K. pneumoniae* daha az karakterize edilmiş ve hala karakterize edilen virülans faktörlerine de sahiptir. Enfeksiyonu

başarmak için *K. pneumoniae*, önce mekanik ve kimyasal engelleri aşmalı ve konağın hümmoral bağışıklığı ve hüccresel bağışıklığı tarafından tanınmaktan kaçınmalıdır. Konakçuya girdikten sonra, istilacı mikroorganizmalar, tanıma reseptörleri aracılığıyla bağışıklık hücreleri tarafından tanınır ve vücudu çeşitli bağışıklık araçları üretmesi için uyarır. Kapsül, *K. pneumoniae*'yi konağın immün yanıtlarından korumada hayati bir rol oynar. RmpA, kapsüller polisakkaritlerin sentezini düzenleyen plazmit aracılı bir virülans faktörüdür. RmpA taşıyan suşlar, hvKP'nin yüksek mukus fenotipi ve karaciğer apsesi gibi pürülan doku enfeksiyonu ile önemli ölçüde ilişkilidir. *K. pneumoniae* sahip olduğu fimbrialar ile epitel, immün hücreler ve abiyotik yüzeylere bakteriyel yapışmayı destekler. *K. pneumoniae* suşlarındaki Lipopolisakkarit yapı (LPS), kısmen modifiye edilebilir ve bu, *K. pneumoniae*'nin konakçı hücre tarafından tanınmamasına yol açar. İnflamatuvar yanıt inhibe edilir ve bu modifikasyonlar sayesinde bakterilere olan ilgi azalır. Aynı zamanda, demir elde etme yeteneği, bakterilerin büyümesi ve çoğalması için kritik öneme sahiptir. *K. pneumoniae*'de enterobaktin, yersiniabaktin, salmokelin ve aerobaktin olmak üzere dört demir taşıyıcı molekül vardır. Hem kKP hem de hvKP bulunan enterobaktin demir için en yüksek afiniteye sahiptir ve ana demir absorpsiyon sistemi olarak kabul edilir (Wang ve diğ., 2020).

1.1. Amaç

K. pneumoniae, patojenitesine katkıda bulunan birkaç virülans genini barındırabilir. *K. pneumoniae* virülans genlerinin tümü tek başına veya kombinasyon halinde *K. pneumoniae* ile enfeksiyonun başlamasına, yayılmasına, ciddiyetine ve sonucuna çeşitli derecelerde katkıda bulunur. Bununla birlikte, ülkemiz ve bölgemizde klinik örneklerden elde edilen *K. pneumoniae* izolatlarında virülans genlerinin sıklığını bildiren çalışmalar sınırlıdır.

Bu tez çalışmasının amacı; Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesinde, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarında bulunan virülans genlerin tespit edilmesi ve izolatların moleküler pathogenezinin belirlenmesidir.

1.2. Önem

Patojenik *K. pneumoniae*, birden fazla türde virülans geni barındırır. *K. pneumoniae* barındıran tek bir virülans geni ile invaziv enfeksiyon bile kötü sonuçlara yol açabilir.

Virülans genlerinin PZR ile tespiti, onları karakterize etmeye ve farklı konakçı ortamlarında nasıl çalıştıklarını anlamaya yardımcı olacaktır.



2. GENEL KISIMLAR

2.1. ESKAPE Patojenler

Hastane enfeksiyonları ile giderek ilişkili olan antimikrobiyal dirençli patojenlerin sayısının artması, sağlık sistemlerine belirli etkileri olmakta ve önemli küresel ekonomik maliyetlere sebep olmaktadır. Bu etkiler arasında yüksek mortalite ve morbidite oranları, artan tedavi maliyetleri, tanısal belirsizlikler ve tıbbi olan güven eksikliği sayılabilir. Hastane temelli sürveyans çalışmalarının yanı sıra Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği'nden elde edilen verileri kullanan son raporlar, bir grup hastane patojeninden “ESKAPE patojenleri” olarak bahsetmeye başlamıştır. ESKAPE, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türlerinden oluşan hem Gram pozitif hem de Gram negatif türleri kapsayan bakteri grubunun kısaltmasıdır. Bu bakteriler, kritik derecede hasta ve bağışıklığı baskılanmış bireyler arasında yaşamı tehdit eden hastane enfeksiyonlarının yaygın nedenleridir ve potansiyel ilaca direnç mekanizmaları ile karakterize edilirler (Santajit ve Indrawattana, 2016).

Şubat 2017'de, yeni antibiyotiklerle ilgili araştırma ve geliştirmeye odaklanmak ve rehberlik etmek için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), yeni antimikrobiyal geliştirmeye acilen ihtiyaç duyulan patojenlerin listesini yayınladı. Bu geniş liste içerisinde ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri) patojenleri “öncelikli statü” olarak belirlendi. ESKAPE patojenleri, genetik mutasyon ve mobil genetik elementlerin edinimi yoluyla oksazolidinonlar, lipopeptitler, makrolidler, florokinolonlar, tetrasiklinler, β -laktamlar, β -laktam/ β -laktamaz inhibitör kombinasyonları, karbapenemler ve glikopeptitler gibi birçok antibiyotiğe karşı direnç mekanizmaları geliştirmiştir (De Oliveira ve diğ., 2020).

2.2. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae, ESKAPE patojenlerinden biridir. Bakteri, *Enterobacteriaceae* ailesinin çubuk şeklinde bir üyesidir. *Klebsiella pneumoniae*, Gram negatif, kapsüllü,

hareketsiz, fakültatif anaerobik bir bakteridir. İlk olarak 1875'te Edwin Klebs tarafından pnömoniden ölmekte olan bir hastanın hava yollarından izole edilmiş ve daha sonra 1882'de Carl Friedlander tarafından tanımlanarak bir süre Friedlander basili olarak adlandırılmıştır. *Klebsiella* türleri içerisindeki *K. pneumoniae* önemli klinik etkileri olan fırsatçı ve iyatrojenik bulaşıcı patojendir. İnsanlarda, *Klebsiella* sıklıkla herhangi bir semptomatik hastalığa neden olmadan nazal ve sindirim sistemini kolonize eder. Bununla birlikte, konak bağışıklığı patojen büyümesini kontrol edemediğinde kolonizasyon bir enfeksiyona dönüşebilir (Chang ve diğ., 2021; Tamou, 2021).

K. pneumoniae, pnömoniye neden olan hastane ajanlarının en yaygın türüdür. *Klebsiella*, enfekte olmuş kişisel veya diğer hastalarla doğrudan temas yoluyla sağlık tesislerinde hızla yayılabilir ve hastane salgınlarına ve toplum kökenli pnömonilere neden olabilir. Pnömoni dışında, *K. pneumoniae* idrar yolu enfeksiyonlarından da sıklıkla sorumludur ve *E. coli*'den sonra en sık görülen ikinci nedendir. Akciğerler ve mesanedeki *K. pneumoniae* birincil enfeksiyonları kana yayılarak bakteriyemiye neden olarak yüksek morbidite ve mortalite oranlarına neden olabilir. Antibiyotiklere direnç sağlayan büyük bir "aksesuar" genomlarının oluşu, horizontal gen transferi yoluyla diğer bakterilerden yeni genler elde etme yeteneği, bakteriyi koruyan bir kapsül yapısının olması *K. pneumoniae*'yi bu kadar ölümcül yapan en önemli özelliklerdir (Guerreiro, 2016; Tamou, 2021).

Çoklu ilaca dirençli olup olmadıklarına bakılmaksızın normalde sağlıklı bireylerde (idrar yolu enfeksiyonları hariç) nadiren hastalığa neden olan *K. pneumoniae* suşlarını "klasik suşlar" (kKP) olarak değerlendirilir. Diyabet veya malignitelerden mustarip kişiler de dahil olmak üzere bağışıklığı baskılanmış bireylerde, kKP suşları pnömoni, bakteriyemi veya menenjit gibi ciddi enfeksiyonlara neden olur. kKP suşlarının ilaç direnci taşınması tedavi edilmelerini daha zor hale getirmesine rağmen, suşların virülansını artırmaz. Bununla birlikte, 1980'lerden beri, sağlıklı bireylerde ciddi enfeksiyonlara neden olabilen *K. pneumoniae* suşları ilgi odağıdır. Bu suşlar, hem sağlıklı hem de bağışıklığı baskılanmış popülasyonları enfekte etme yetenekleri ve bu enfeksiyonların invaziv olma eğiliminin artması nedeniyle klasik *K. pneumoniae* suşlarına kıyasla hipervirülant (hvKP) olarak kabul edilir. Bu ek virülans, kapsül üretimini arttıran ve ayrıca sideroforları kodlayan genleri içeren 200 ila 220 kb'lik bir plazmitin edinilmesiyle ilişkilidir (Paczosa ve Meccas, 2016).

Birçok araştırmacı, çoklu ilaca dirençli ve virülant klonun, bir antimikrobiyal direnç ve virülans genler havuzuna erişme yeteneğine sahip olduğunu ve bunun da potansiyel olarak

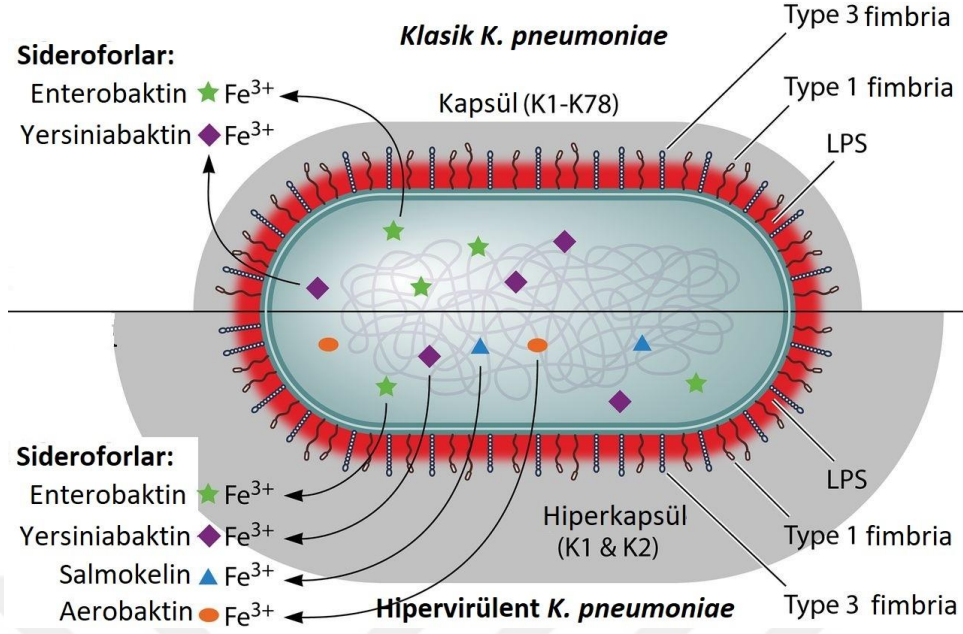
sağlıklı insanlarda tedavi edilemeyen ve zor enfeksiyonlara neden olan çoklu ilaç, hvKP klon kabiliyetinin ortaya çıkmasına izin verdiğini keşfetmiştir (Cheng ve diğ., 2007).

Çeşitli virülans faktörlerinin *K. pneumoniae*'nin enfektivitesine yardımcı olduğu gösterilmiştir. Bu virülans faktörleri, hvKP suşlarında gözlenen çeşitli immün yanıtlara ve ilgili fenotiplere yol açan kapsül, lipopolisakkarit, adezin ve sideroforları içerir (Chang ve diğ., 2021).

2.3. *K. pneumoniae* Virülans Faktörleri

Klebsiella pneumoniae, pnömoniler, idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemiler ve karaciğer apseleri dahil olmak üzere çok çeşitli enfeksiyonlara neden olur. Tarihsel olarak, *K. pneumoniae* öncelikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde ciddi enfeksiyonlara neden olmuştur, ancak son zamanlarda hipervirulent suşların ortaya çıkması ve yayılması, enfeksiyonlara duyarlı kişilerin sayısını sağlıklı ve bağışıklığı yeterli olanları içerecek şekilde genişletmiştir. Ayrıca, *K. pneumoniae* suşları antibiyotiklere karşı giderek daha dirençli hale geldi ve bu suşların neden olduğu enfeksiyonu tedavi etmeyi çok zor hale getirdi. *K. pneumoniae*, gelişmek ve kendisini konakçının bağışıklık tepkisinden korumak için birçok strateji kullanır. Bugüne kadar, *K. pneumoniae*'de iyi tanımlanmış dört ana virülans faktörü sınıfı vardır (Şekil 1). Bu virülans faktörleri kapsül; lipopolisakkarit (LPS); sideroforlar; ve pili olarak da bilinen fimbriadır (Cortes ve diğ., 2002; Paczosa ve Mecsas, 2016).

Yakın zamanda *K. pneumoniae* virülansı için önemli olan birkaç başka faktör tanımlandı. Bununla birlikte, bu faktörler henüz tam olarak tanımlanmamış olup etki mekanizmalarını ve klinik önemini tam olarak anlamak için çalışmalar yapılmaktadır. Bu virülans faktörleri, OMP'leri, porinleri, akış pompalarını ve allantoin metabolizmasında yer alan genleri içerir (Paczosa ve Mecsas, 2016).

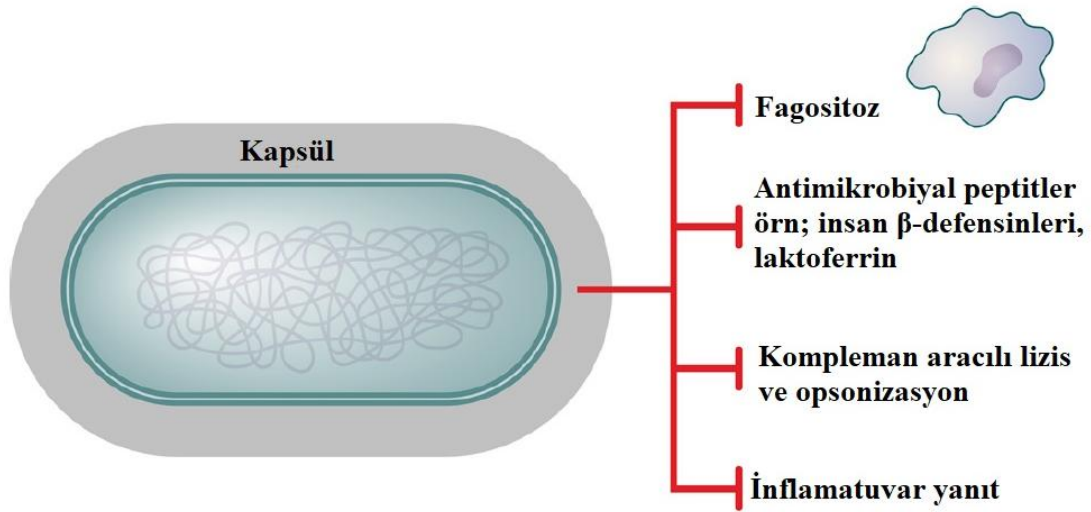


Şekil 2.1. Klasik ve hipervirüent *K. pneumoniae* (*Kp*) suşlarında virülans faktörleri. Kapsül, LPS, fimbria (Tip 1 ve Tip 3) ve sideroforlar (Paczosa ve Meccas, 2016).

2.3.1. Kapsül

Hücreyi kaplayan bir polisakarit matrisi olan kapsül, *K. pneumoniae* virülansı için gereklidir ve tartışmasız *K. pneumoniae*'nin en kapsamlı çalışılmış virülans faktörüdür (Lawlor ve diğ., 2006). Yapılan çalışmalar kapsülsüz *K. pneumoniae* suşlarının fare modellerinde akciğerlerdeki bakteri yükünün azalmasına, daha düşük fare ölüm oranlarına ve bakterilerin sistemik olarak yayılmamasına bağlı olarak kapsüllü suşlardan önemli ölçüde daha az öldürücü olduğunu göstermiştir (Cortes ve diğ., 2002; Lawlor ve diğ., 2006). Ayrıca, hvKP suşları, tipik kapsülden daha sağlam olan bir mukoviskoz ekzopolisakarit bakteri kaplamasından oluşan, hipermukoviskozite (hmv) olarak da bilinen bir hiperkapsül üretir. Bu hiperkapsül, hvKP'nin patojenitesine önemli ölçüde katkıda bulunabilir (Yeh ve diğ., 2007).

K. pneumoniae virülansında kapsülün bir dizi farklı işlev ve rolü tanımlanmıştır. Birincisi, kapsül, bağışıklık hücreleri tarafından bakterilerin fagositozunu önler. İkinci olarak, insan β -defensinleri 1 ile 3 ve laktoferrin gibi antimikrobiyal peptitlerin bakterisidal etkisini, bu molekülleri dış zardan uzakta bağlayarak engeller. Üçüncü olarak, C3 gibi kompleman bileşenlerinin membran ile etkileşimini bloke eder, böylece kompleman aracılı lizis ve opsonizasyonu önler. Son olarak, NOD'a bağlı bir yolun aktivasyonuna yardımcı olarak ve LPS'yi bağışıklık hücresi reseptörleri tarafından tanınmaktan koruyarak bağışıklık tepkisinin ani aktivasyonunu önler (Şekil 2.2) (Paczosa ve Meccas, 2016).



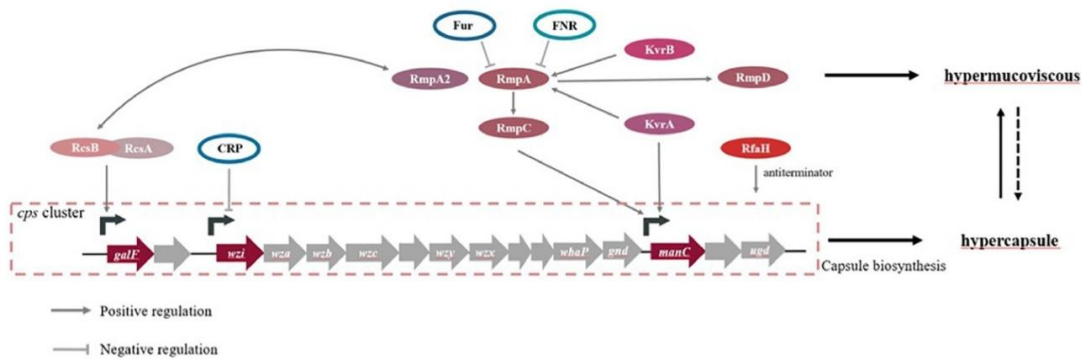
Şekil 2.2. *K. pneumoniae* virülansında kapsülün rolü (Paczosa ve Meccas, 2016).

Hem kKP hemde hvKP suşlarındaki kapsül K antijenleri olarak adlandırılan kapsüller polisakkaritlerden oluşur (Paczosa ve Meccas, 2016). Bu antijen *Klebsiella* suşlarının serolojik olarak tiplendirilmesinde kullanılır. Kapsül dört ile altı şekerden ve sıklıkla üronik asitlerden (negatif yüklü bileşenler olarak) oluşan tekrarlayan alt birimlerdir (Podschun ve Ullmann, 1998). K tiplendirmesi 1926'da, 1970'lere kadar daha da geliştirildi ve hala yaygın olarak kullanılan bir karakterizasyon yöntemidir. *K. pneumoniae* için bugüne kadar en az 79 K tipi vardır, bunlardan bazıları deneysel modellerde ve belirli insan enfeksiyonlarında güçlü bir şekilde virülans ile ilişkilidir (Brisse ve diğ., 2013; Zhu ve diğ., 2021). Sekiz tip K-antijeni (K1, K2, K5, K16, K20, K54, K57 ve KN1) hipervirülans ile ilişkilidir. K1 ve K2 antijen tipleri ise en yaygın olanlarıdır (Lee ve diğ., 2016). K antijenleri geleneksel olarak serolojik yöntemler kullanılarak tiplendirilir. Ancak son zamanlarda, K-antijen tiplemesi sıklıkla *wzi* lokusunun sekanslanmasıyla gerçekleştirilir (Paczosa ve Meccas, 2016).

Kapsül üretimini içeren genler, kromozomun kapsüler polisakkarit sentezi (*cps*) bölgesinde bulunur. *cps* gen kümesi bölgesi (*galF*'den *ugd*'ye) 20'den fazla geni barındırır. Bu genler *galF*, *wzi* ve *manC* genlerin yukarısında bulunan üç promotor aracılığı ile ekspres edilir (Şekil 2. 3). Bu genler arasında *wbaP* geninin kodladığı protein kapsül biyosentezinin ilk adımına aracılık eder ve bu genin silinmesi, bozulmuş kapsül üretimine neden olur (Ernst ve diğ., 2020). *wzx* geninin kapsül biyosentezindeki işlevi, hücre içerisinde sentezlenen polimeri sitoplazmadan periplazmik boşluğa aktarmaktır. *wzy* geni tarafından kodlanan protein, yakala ve bırak mekanizması yoluyla polimerizasyona katılır. *wza* ve *wzc* genleri tarafından kodlanan proteinler, kapsüller polisakkaritlerin bir araya getirilmesinden ve bunların periplazmadan

bakteri yüzeyine taşınmasından sorumlu bir translokasyon kompleksi oluşturur. *wzb* geninden kodlanan protein *wzc* üzerindeki katalitik alanla birleşir ve sırayla *wzc*'yi fosforile eder. Serotipe özgü gen *wzi*, kapsüler polisakkaritleri dış zara sabitleyerek bakteri kapsülünün oluşumuna yardımcı olan bir dış zar proteinini kodlar ve *wzi* eksikliği kapsülsüz fenotipler verir. *wzy* geni, farklı *cps* tiplerini karakterize etmek için sıklıkla bir hedef olarak kullanılan serotipe özgü bir hedef olarak kabul edilir. Şaşırtıcı bir şekilde, 2004'te keşfedilen kromozomal mukoviskozite ile ilişkili gen A'nın (*magA*) daha sonra K1 lokusundaki (yani K1_wzy) *wzy* geni olduğu bulundu. Ek olarak, *magA* (K1_wzy) kapsüler polisakkarit sentezi için gereklidir ve hiper mukoviskozitede ve kompleman aracılı lizise karşı dirençte önemli bir rol oynar. *magA* mutantlarının bu özelliklerini kaybettiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, *magA*'nın virülansla ilişkili bir faktör olarak hareket ettiği ancak K1 izolatlarıyla sınırlı olduğu varsayılmaktadır. Yüksek kapsül üretkenliği, *cps* kümesinde bulunanlara ek olarak bir dizi virülans genede dayandırılır. Bu genler; kapsül sentezi regülasyonu (*rcaA*, *rcaB*, *rcaC*, *rcaD*), mukoid fenotip regülasyon A ve A2 (*rmpA* ve *rmpA2*) ve *Klebsiella* virülans regülasyon (*kvrA* ve *kvrB*) genleridir. Bu genler, *cps* lokusu için pozitif transkripsiyonel regülasyon faktörleridir (Paczosa ve Meccas, 2016; Zhu ve diğ., 2021).

Rcs fosforlama sistem, başlangıçta *E. coli*'de kolonik asit sentezi için bir düzenleyici olarak tanımlanan ve üç çekirdek proteinden, RcsC, RcsD ve RcsB'den oluşan iki bileşenli bir sinyal iletim sistemidir. RcsC proteini, ekstra sitoplazmik uyarıyı algıladıktan sonra otofosforilasyonu üstlenebilen ve ardından uyarıyı RcsD'ye aktarabilen bir transmembran sensör kinazdır. Son olarak sinyal, yardımcı proteinlerle homodimer veya heterodimer oluşturan yanıt düzenleyici olan RcsB'ye iletilir. Daha sonra fosforile RcsB, RcsA ile etkileşime girer ve bu dimer, kapsülün biyosentezini aktive eden *cps* kümesindeki promotora bağlanır (Şekil 2.3) (Guo ve Sun, 2017).



Şekil 2.3. Kapsül biyosentezinden sorumlu düzenleyici ve *cps* lokusundaki genler (Zhu ve diğ., 2021).

Diğer bir regülasyon geni olan *K. pneumoniae*'nin *rmpA* geni, *rscA*'ya benzer şekilde kapsüller polisakkaritlerin biyosentezini aktive etmek için RcsB'ye bağlanır. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki mutant *rmpA*⁺ *rscB*⁻ suşları ve *rmpA*⁻ *rscB*⁺ suşları kapsül üretimini artıramaz. RmpA2, kapsül üretkenliğini düzenlemek için doğrudan *cps* gen promotörüne bağlanabilir. Ayrıca, RmpA ve RmpA2, hvKP suşlarında hiperpermukoza fenotipi için gerekliliği bilinen düzenleyicilerdir. Kromozomda bulunan *rscA*, *rscB* ve *rscC*'den farklı olarak, hem *rmpA* hem de *rmpA2* plazmit veya kromozom tarafından kodlanabilmektedir. Kromozomal *rmpA* (*c-rmpA*) integratif ve konjugatif bir elementte (ICEKp1) yer almaktadır. Plazmit aracılı *rmpA* (*p-rmpA*) *K. pneumoniae* suşlarında en yaygın olanıdır. Bunun yanı sıra Fur (demir alınımlı regülatör proteini), FNR (Fumarat nitrat redüksiyon regülasyon proteini) ve klasik *K. pneumoniae* suşlarında bulunmayan diğer regülatör KvrA ve KvrB proteinleri *rmpA* geni üzerine oluşturdukları pozitif ve negatif regülasyona bağlı olarak kapsül üretimi üzerine etki gösterirler. cAMP reseptör proteini (CRP), *cps* ekspresyonunu azaltır. Bu, *manC* ve *wzi* promotorları arasındaki doğrudan etkileşimin bir sonucudur (Şekil 2.3) (Zhu ve diğ., 2021).

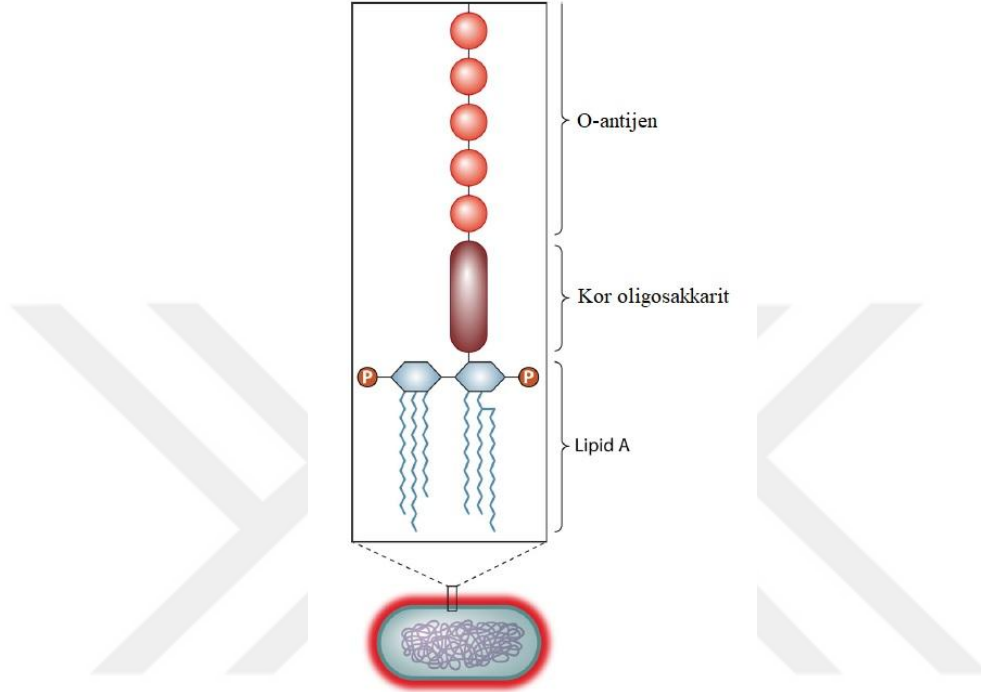
Kapsül üretim süreci transkripsiyon sonlandırmasını engelleyerek *cps* operonunu aktive eden önemli bir transkripsiyon faktörü olan RfaH'ye ihtiyaç duyar (Şekil 2. 3) . Bachman ve diğ. (2015) yaptıkları çalışmada deney hayvanı modellerinde bakteriyemi ile komplike akut pnömoniye neden olan *K. pneumoniae* KPPR1 suşunun *rfaH* mutantının kapsül oluşma yeteneğinin vahşi tipe karşılaştırıldığında >10.000 kat azaldığını göstermiştir.

2.3.2. Lipopolisakkarit (LPS)

Endotoksin olarak da bilinen LPS, tüm Gram-negatif bakterilerin hücre zarının dış kısmının önemli ve gerekli bir bileşenidir. Bakteri türleri arasında LPS yapılarında önemli farklılıklar olmasına rağmen, tipik olarak O antijeni, kor oligosakkarit ve lipid-A yapısından oluşur (Şekil 2. 4). Bu bileşenler sırasıyla *wb*, *wa* ve *lpx* gen kümelerindeki genler tarafından kodlanır (Paczosa ve Meccas, 2016; Zhu ve diğ., 2021).

K. pneumoniae izolatlarında tanımlanmış sadece 9 farklı O-antijen (O1, O2, O2ac, O3, O4, O5, O7, O8 ve O12) tipi vardır ve O1 klinik izolatlarda en yaygın olanıdır. O-antijenin biyosentezi, *wzm*, *wzt*, *wbbM*, *glf*, *wbbN* ve *wbbO*'dan oluşan altı genli bir *wb* kümesi tarafından kodlanan enzimler tarafından yürütülür. *wb* kümesi, korunmuş bir gen organizasyonuna sahiptir, ancak ilgili kodlama dizilerinde yüksek genetik çeşitlilik gösterir (Hsieh ve diğ., 2012). LPS'nin en dıştaki alt birimi olan O-antijen, konağın doğuştan gelen

bağışıklık sistemi tarafından karşılaşılan ilk moleküldür ve patojenleri kompleman aracılı öldürmeye karşı korur (Zhu ve diğ., 2021). Önceki çalışmalar, O1:K2 kKP'deki O-antijenin, makrofaj aktivasyonunu zayıflatarak ve bakteriyemiye teşvik ederek bakteriyel virülansa ve öldürücülüğe katkıda bulunabileceğini göstermiştir (Lugo vd., 2007).



Şekil 2.4. LPS yapısı (Paczosa ve Mecsas, 2016).

K. pneumoniae için kor oligosakkaritin sadece iki türü (tip 1 ve tip 2) karakterize edilmiştir. Bu iki tür kor oligosakkarit iki farklı *wa* gen kümesinin (13 gen) ürünleri tarafından sentezlenir. Tip 2 *wa* gen kümesi, *hldD*, *waaF*, *waaC*, *wabK*, *waaL*, *wabM*, *waaQ*, *wabG*, *wabH*, *orf10*, *waaA*, *waaE* ve *coaD*'den oluşur. İki *wa* gen kümesi yalnızca iki gen ile farklılık gösterir. Tip 1 *wabI* ve *wabJ*'ye sahipken, tip 2 *wabK* ve *wabM*'ye sahiptir. Farklı hayvan modellerinde gerçekleştirilen testlerde; *waaC*, *waaF* ve *wabG* kor oligosakkarit genlerinde meydana gelen mutasyonlar virülansı büyük ölçüde zayıflatır ve deneysel idrar yolu enfeksiyonlarında önemli ölçüde azalmış kolonizasyon yetenekleri gösterir. Hiper mukoviskozite gösteren hvKP suşları tip 2 kor oligosakkarit sentezler (Izquierdo ve diğ., 2003; Regue ve diğ., 2005; Li ve diğ., 2014).

Regue ve diğ. (2004) yaptıkları çalışmada bir UDP galacturonate 4-epimeraz kodlayan *uge* geninin *K. pneumoniae* virülansı için gerekli olduğunu gösterdi. *uge* geni, hem hastalığa neden olan hem de kommensal suşlar dahil olmak üzere *K. pneumoniae* izolatlarının çoğunda bulunur ve bu genin yokluğunda veya gendeki tek bir mutasyonda O⁻ fenotipe sahip suşlar

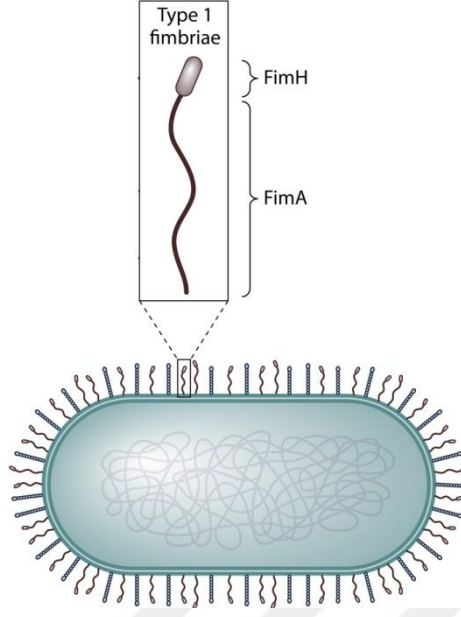
oluşur. *K. pneumoniae* uge mutantları, sıçanlarda deneysel idrar yolu enfeksiyonları oluşturamadığı ve iki farklı hayvan modelinde (septisemi ve pnömoni) tamamen avirüレント olduğu tespit edildi.

2.3.3. Fimbria

Fimbrialar, *K. pneumoniae* virülans faktörlerinin başka bir sınıfını temsil eder ve *K. pneumoniae* adezyonunun önemli araçlarıdır. En az dört tip fimbria (tip 1 fimbria, tip 3 fimbria, Kpc fimbria, KPF-28 adhesin) *K. pneumoniae* için deneysel olarak karakterize edilmiştir. *K. pneumoniae*'de tip 1 ve 3 fimbria, patojenite faktörleri olarak karakterize edilen başlıca yapışkan yapılardır. *K. pneumoniae* kromozomları tip 1 fimbria gen lokusu (*fimBEAICDFGHK*), tip 3 fimbria gen lokusu (*mrkABCDF*) ve regülatör gen lokus (*mrkHIJ*) olmak üzere korunmuş bir fimbria kodlayan bölge içerir (Di Martino ve diğ., 1996; Struve ve diğ., 2009; Wu ve diğ., 2010).

2.3.3.1. Tip 1 Fimbria

Tip 1 fimbria bakteri hücre yüzeyinde dış zarın üzerinde ince, sert, yapışkan, iplik benzeri yüzey uzantılarıdır (Şekil 2.5). Hem klinik hem de çevresel *K. pneumoniae* izolatlarının % 90'ında ve *Enterobacteriaceae*'nin hemen hemen tüm üyelerinde ifade edilir. *K. pneumoniae* tip 1 fimbrial gen kümesi, *Escherichia coli*'ninkine benzerdir. *fimA* geni yapının çoğunluğunu oluşturan FimA alt birimini kodlar. *fimH* geni yapının ucundaki yapışkan özellik gösteren FimH küçük alt birimini kodlar. Küme içindeki diğer genlerden *fimF* ve *fimG* küçük yapısal alt birimleri, *fimC* fimbrial şaperonu, *fimD* bir haberci proteini ve *fimI* tip 1 fimbria için gerekli olan fakat karakterize edilmemiş bir ürünü kodlar. *K. pneumoniae* ayrıca *E. coli* tarafından taşınmayan bir gen olan *fimK* genini taşır. *fimK* geni tarafından kodlanan FimK proteini, N-terminalinde varsayılan bir DNA bağlama bölgesi ile transkripsiyonel düzenleyici görevi görür. *fimK* transkripsiyonunu uyarmak için spesifik olarak *fimA*'nın yukarı bölgesinde bulunan promotora bağlanabilir. *K. pneumoniae* tip 1 fimbria, D-mannosile edilmiş glikoproteinlere yani hücre dışı matrisler üzerindeki mannoz içeren yapılara bağlar ve bu nedenle tip 1 fimbria tarafından bağlanma, sıklıkla “mannoza duyarlı” bağlanma olarak adlandırılır. *K. pneumoniae* tip 1 fimbria, idrar yolu enfeksiyonunun ilk oluşumu için gereklidir. Ancak tip 1 fimbrianın *K. pneumoniae*'nin bağırsakta kolonize olma veya akciğeri enfekte etme yeteneği üzerinde hiçbir etkisi yoktur (Paczosa ve Meccas, 2016; Zhu ve diğ., 2021).

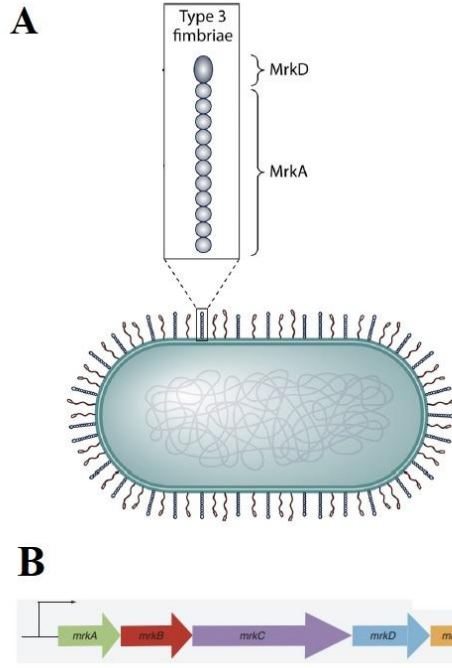


Şekil 2.5. Tip 1 fimbrianın yapısı (Paczosa ve Mecsas, 2016).

Tip 1 fimbriaların, mesanede ve abiyotik yüzeylerde biyofilm oluşumunun yanı sıra *K. pneumoniae* tarafından mesane hücresi invazyonunda rolü vardır. Bununla birlikte, tip 1 fimbria birkaç şekilde in vivo olarak *K. pneumoniae* virülansı üzerinde olumsuz bir etki oluşturabilir. İlk olarak, tip 1 fimbria, makrofajlar ve nötrofiller tarafından *K. pneumoniae*'nin fagositozunu çoğaltır. İkinci olarak, FimH alt birimi, mast hücreleri gibi bağışıklık hücrelerine bağlanmayı artırarak, bağışıklık hücresi aktivasyonunun artmasına ve ardından nötrofillerin toplanmasına yol açar, bu da muhtemelen *K. pneumoniae* temizlenmesini artırır (Paczosa ve Mecsas, 2016).

2.3.3.2. Tip 3 Fimbria

K. pneumoniae tip 3 fimbria, 2-4 nm genişliğinde ve 0,5-2 µm uzunluğunda sarmal benzeri bir filamenttir. Fimbria, hücre dışı uzantıların yapısal ve montaj bileşenlerini kodlayan beş genden oluşan *mrk* gen lokusu (*mrkABCDF*) tarafından kodlanır. Yapının büyük bir kısmı *mrkA* geninin kodladığı yapıyı sarmal şeklini veren alt birimlerden oluşur. Kollajen moleküllerine bağlanma yeteneğine sahip olan yapışkan alt birim, *mrkD* tarafından kodlanır ve fimbriyanın ucunda bulunur (Şekil 2.6). MrkB ve MrkC'nin diğer fimbrial gen kümelerinden gelen proteinlerle karşılaştırılması, bunların sırasıyla periplazmik şaperonlar ve iskele proteinleri ailesine ait olduğunu gösterir. MrkF ise fimbriaların yüzey stabilitesinde rol oynar (Murphy ve Clegg, 2012).



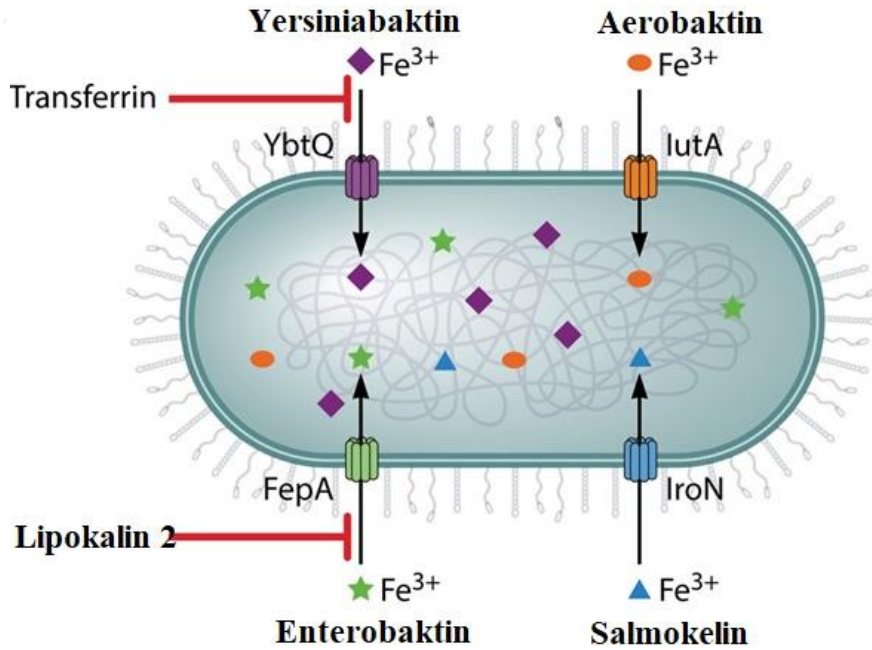
Şekil 2.6. Tip 3 fimbria yapısı ve gen lokusu. A: *K. pneumoniae*'de yer alan tip 3 fimbriyanın yapısı, B: tip 3 fimbriyanın yapısal ve montaj bileşenlerini kodlayan *mrkABCDF* gen lokusu (Murphy ve Clegg, 2012; Paczosa ve Mecsas, 2016).

Tip 1 fimbriaya benzer bir şekilde, tip 3 fimbria kodlayan operon hemen hemen tüm *K. pneumoniae* izolatlarında bulunur. Tip 3 fimbria, büyük olasılıkla mannoza dirençli bir şekilde epitel hücrelerine, böbrek ve akciğer dokularına in vitro yapışmaya aracılık eder. Tip 3 fimbriaların *K. pneumoniae* biyofilm üretimi ve tıbbi cihazlara bağlanması için gerekli olduğu bulunmuştur. Tip 3 fimbria için spesifik bir hücre yüzeyi reseptörü henüz tanımlanmamış olsa da, bunların tip IV ve V kollajenler gibi hücre dışı matris proteinlerini bağladığı gösterilmiştir (Paczosa ve Mecsas, 2016).

2.3.4. Sideroforlar

Demir, *K. pneumoniae* tarafından ihtiyaç duyulan sınırlı bir kaynaktır ve enfeksiyon sırasında *K. pneumoniae*'nin gelişmesi için ortamdan alınması gerekir. Bu metal, enfeksiyon sırasında konakçıda kolayca bulunmaz, bunun başlıca nedeni, spesifik olmayan bağışıklık tepkisinin bir parçası olarak, konakçının, bir dizi olası patojenin büyümesini kısıtlamak için onu alıkoymasıdır. Normal olarak, transferrin gibi demir taşıma molekülleri ile bağlandığı için konak plazmasında çok az serbest demir bulunur. Memeli konakçılar, bakteriyel enfeksiyonda demiri vücut sıvılarında bulunan ve doğuştan gelen bir savunma proteini olan laktoferrine bağlayarak değiştirir ve plazmadaki demir seviyelerini daha da azaltabilir. Bu nedenle, *K.*

pneumoniae, diğer birçok bakteriyel patojen gibi, memeli enfeksiyonu sırasında hayatta kalmak ve çoğalmak için konakçıdan demir almak için taktikler kullanmalıdır. *K. pneumoniae* dahil olmak üzere birçok patojen tarafından demir elde etmek için kullanılan baskın taktik, konak taşıyıcı proteinlerinden daha yüksek bir afiniteye sahip olan moleküllerin yani sideroforların salgılanması yoluyla. Sideroforlar, dışarıda bulunan demiri bağlayabilen ve spesifik reseptörler yoluyla bakteri hücrelerine yeniden girebilen küçük moleküllerdir. Sideroforlar, konakçı demir şelatlayıcı proteinlerden demir çalabilir veya onu çevreden temizleyebilir. *K. pneumoniae* suşları birkaç sideroforu kodlar ve her bir sideroforun virülansa katkısı ve ifadesi değişir. *K. pneumoniae* tarafından birden fazla sideroforun üretilmesi, farklı dokuların başarılı kolonizasyonunun ve/veya bir sideroforun konakçı tarafından nötralizasyonundan kaçınmanın alternatif bir yoludur. Enterobaktin, yersiniabaktin, salmokelin ve aerobaktin dahil olmak üzere *K. pneumoniae*'de çeşitli sideroforlar eksprese edilir ve bu farklı siderofor moleküllerinin *K. pneumoniae* enfeksiyonundaki rolleri farklıdır (Şekil 2.7). Bu sideroforlardan demire afinitesi en düşük olan aerobaktin, en yüksek olan enterobaktindir (Paczosa ve Mecsas, 2016; Arato ve diğ., 2021).



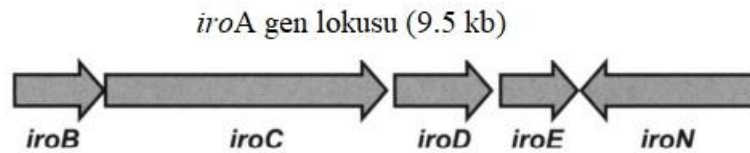
Şekil 2.7. *K. pneumoniae*'de siderofor üretimi (Paczosa ve Mecsas, 2016).

2.3.4.1. Enterobaktin

Dört siderofor arasında, korunmuş olan enterobaktin, Fe^{+3} için en yüksek bağlanma afinitesini sağlayan üç katekol halkası içerir, bu da onu demir alımında hem kKP hem de hvKP için gerekli ve birincil kılar. Enterobaktin biyosentezi için gerekli olan *ent* gen lokusu (*ent*ABCDEF) kromozom üzerinde yer alır. *fep* lokusu (*fep*ABCDG) ise enterobaktinin hücre içerisine taşınmasına aracılık eden taşıma proteinleri ve spesifik reseptörü kodlar. Spesifik reseptör *fepA* tarafından kodlanır (Bachman ve diğ., 2012). Enterobaktin, konakçı tarafından salgılanan molekül lipokalin-2 tarafından nötralize edilir. Lipokalin-2, çeşitli antimikrobiyal özelliklere sahip olan ve enfeksiyon sırasında nötrofiller de dahil olmak üzere birçok hücre tipinden salınan çok işlevli bir proteindir (Chan ve diğ., 2009). Akıllıca, *K. pneumoniae* suşlarının bazıları, lipokalin-2 bağlanmasından kaçmak için yüksek oranda glikosile edilmiş enterobaktin olan salmokekin ve alternatif siderofor yersiniabaktin gibi gizli sideroforlar geliştirir. Diğer bir deyişle, salmokekin ve yersiniabaktin içeren suşlar, lipokalin-2'nin varlığına rağmen hayatta kalabilmek için demir elde etmektedirler (Bachman ve ark., 2012; Holden ve ark., 2014).

2.3.4.2. Salmokekin

Salmokekin, enterobaktinin glukosillenmiş bir formudur. Salmokekinin sentezi, atılımı ve alımı kromozom veya bir plazmit üzerinde bulunan *iroA* gen lokusu (*iro*BCDE) tarafından gerçekleştirilir. *iroA* gen kümesi, enterobaktinin modifikasyonu ve taşınmasında yer alan beş proteini kodlar. *iroB* geni enterobaktinin glukosillenmesini sağlar. *iroE* enterobaktini hidrolitik olarak doğrusallaştırır. *iroD* bakteriyel sitoplazmada demiri yeniden oluşturmak için sideroforun ferrik komplekslerini bozar. *iroN* ve I ise salmokekin için spesifik reseptör görevi görür ve salmokekinin hücre zarından taşınmasını sağlar (Şekil 2.8) (Fischbach ve diğ., 2006).



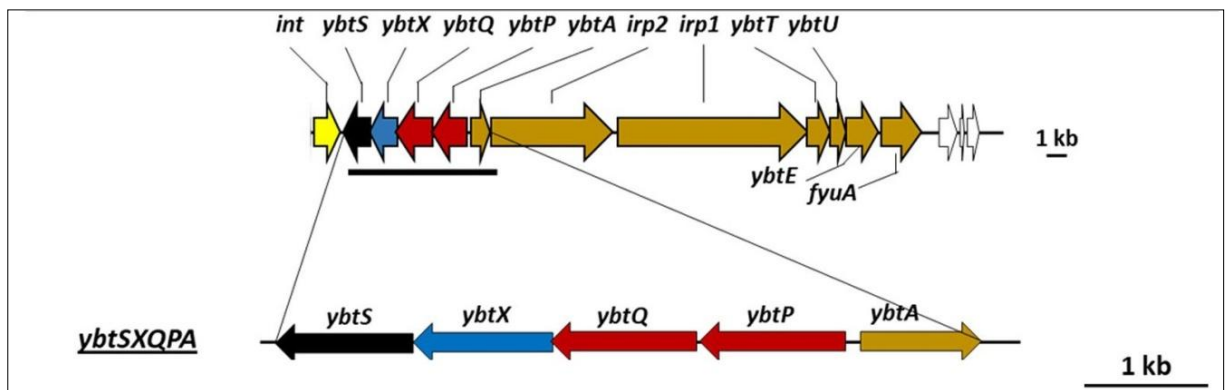
Şekil 2.8. *iroA* gen lokusu (Fischbach ve diğ., 2006).

Enterobaktinin salmokekine modifikasyonu önemlidir. Bu modifikasyon salmokekinin lipokalin-2 tarafından bağlanmasını önler. Böylece siderofor nötralizasyonunu ve lipokalin-2'ye bağlı inflamasyon indüksiyonunu engeller. Bu nedenle salmokekine sahip *K.*

pneumoniae'nin konakçıda lipokalin-2 olmasına rağmen kolonize olması ve enfeksiyon yapabilmesi şaşırtıcı değildir. Salmokelin üreten *K. pneumoniae* suşlarının daha patojen olduğu tahmin edilebilir. Salmokelinin hvKP suşlarında çok daha yaygın olduğu ve hvKP suşlarının %90'ında varlığını bildiren araştırmalar mevcuttur (Paczosa ve Meccas, 2016).

2.3.4.3. Yersiniabaktin

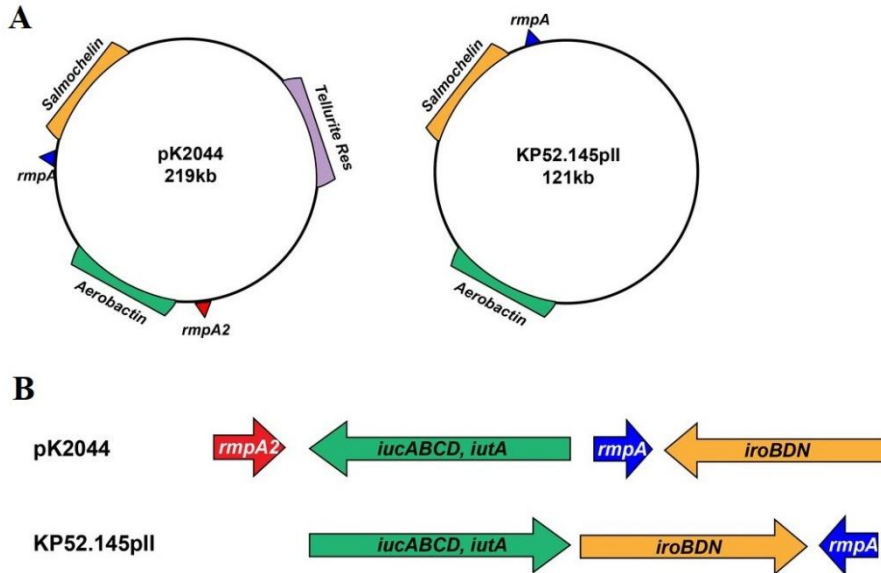
Diğer bir siderofor olan yersiniabaktin ilk olarak Gram negatif bakteriyel patojen *Yersinia*'da keşfedildi. Günümüze kadar *K. pneumoniae* dahil olmak üzere diğer bakterilerde de tanımlandı. Yersiniabaktin siderofor kümesi *K. pneumoniae* klinik izolatlarının yaklaşık yarısında ICEKp1 veya ICEKp3 olarak bilinen integratif ve konjugatif elementlerde bulundu. Bu konjugatif elementler *K. pneumoniae* kromozomu üzerinde patojenite ile ilgili genlerin bulunduğu kromozom adası üzerinde tespit edildi. Bu küme aynı zamanda virülansı arttırdığı *Escherichia coli* ve *Yersinia*'daki patojenite adalarında da yaygındır. Yersiniabaktin sentezi için gerekli proteinler *irp* genleri tarafından kodlanır ve bu siderofor için gerekli taşıyıcıların *ybt* ve *fyu* genleri tarafından sentezlenir. Yersiniabaktin spesifik alım reseptörünün ise *ybtQ* tarafından kodlandığı tahmin edilmektedir (Şekil 2.9). Yersiniabaktinin yapısı enterobaktinden önemli ölçüde farklı olduğu için lipokalin-2 tarafından inhibe edilmez. Özellikle, yersiniabaktin, akciğer enfeksiyonu sırasında eksprese edilir ve aktivitesi erken akciğer enfeksiyonu sırasında in vivo olarak lipokalin-2 tarafından inhibe edilmez. Bu, *K. pneumoniae*'nin enfeksiyon sırasında akciğerlerde yüksek bakteri yüklerine ulaşmasına izin verir. Yersiniabaktin, lipokalin-2 tarafından inhibe edilemede, konakçı protein transferrinin varlığında *K. pneumoniae*'nin büyümesi için gerekli olan demiri elde edemez. Bu nedenle sadece yersiniabaktin sideroforunu eksprese eden suşlar enfeksiyon yeteneğine sahip değildir (Paczosa ve Meccas, 2016; Farzand ve diğ., 2021; Zhu ve diğ., 2021).



Şekil 2.9. *K. pneumoniae* KpRR2'nin ICEKp elementi üzerindeki yersiniabaktin siderofor biyosentezinden sorumlu gen kümesi (Farzand ve diğ., 2021).

2.3.4.4. Aerobaktin

Hipervirülant *K. pneumoniae*'de toplam siderofor üretiminin yaklaşık %90'ı aerobaktin siderofordur. Aerobaktinin deneysel koşullar altında hipervirülansa katkı sağlayan baskın siderofordur. Aerobaktin hvKP suşlarının %90'ından fazlasında ifade edilirken kKP suşlarının yalnızca %6'sında ifade edilir. Aerobaktin, enterobaktin ve yersiniabaktin ile karşılaştırıldığında hvKP'ler için daha spesifiktir, bu da aerobaktinin hipervirülans suşlar için güvenilir bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, aerobaktin, hipervirülansı tanımlamada hipermukoviskoziteden daha duyarlıdır. Aerobaktin varlığı her zaman bir hiperkapsül ile ilişkilidir, ancak tüm hiperkapsüllü suşlar bu siderofora sahip değildir. Bu ilişki, aerobaktin sentezi için gerekli olan *iuc* gen lokusunun (*iucABCD*) ve aerobaktin spesifik reseptör proteini *iutA*'nın kapsül üretiminin bir arttırıcısı olan *rmpA*'yı taşıyan aynı virülans plazmiti üzerinde taşınması gerçeğinden kaynaklanır. *K. pneumoniae*'de en iyi karakterize edilen virülans plazmitleri olan pK2044 ve Kp52.145pII incelendiğinde; bu plazmitlerin hipervirülant suşların ayırt edici özelliği olarak kabul edilen hipermukoid fenotipini sağlayan *rmpA* genleri ile birlikte aerobaktin (*iucABCD*, *iutA*) ve salmokelelin (*iroBDCE*) siderofor gen lokuslarını beraber taşıdıkları tespit edildi (Şekil 2.10) (Zhu ve diğ., 2021; Kochan ve diğ., 2022).

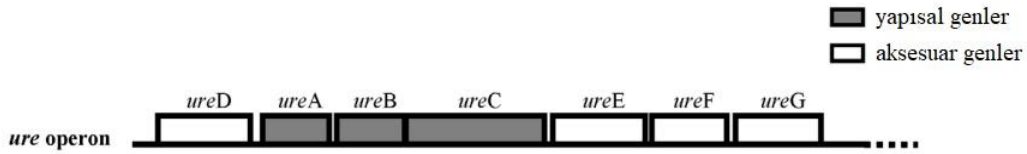


Şekil 2.10. *K. pneumoniae*'de hipervirülans ile ilişkili virülans plazmitleri. A; pK2044 ve KP52.145pII plazmitlerinin şematik görüntüsü, B; aerobaktin ve salmokelelin gen lokuslarının gösterimi (Kochan ve diğ., 2022'den modifiye edildi).

Hipervirülant *K. pneumoniae* suşu NTUHK2044'ün genomik sekansının analizi, kromozom üzerinde lokalize olan ve kKP suşlarına kıyasla yaygın olan ek bir demir taşıma sistemi olan *kfu* tanımladı. Deney hayvanı kullanılarak gerçekleştirilen deneyler *kfu*ABC mutantlarının vahşi tip suştan daha düşük virülans sergilediğini gösterdi. İlginç bir şekilde, bu etki sadece *kfu* mutanı ile intragastrik olarak enfekte olmuş farelerde meydana gelir, ancak intraperitoneal enfeksiyonda görülmez, bu da *kfu*'nun bağırsak kolonizasyonuna katkıda bulunabileceğini gösterir. Çoklu ve fazla demir taşıma sistemlerinin *K. pneumoniae* suşlarında varlığı makul ve tamamlayıcıdır çünkü enfeksiyon sırasında farklı organlarda veya mikroçevresel koşullarda işlev görebilirler (Zhu ve diğ., 2021).

2.3.5. Azot Kaynağı Kullanımı

K. pneumoniae dahil olmak üzere birçok bağırsak patojeni, büyüme için bir nitrojen kaynağı olarak üreyi amonyağa ve karbondioksit hidrolize etmek için sitoplazmik üreaz üretebilir. *ureDABCEFG* operonu, metalloenzim üreazın yapısal alt birimlerini (*UreA*, *UreB* ve *UreC*) ve nikel iyonlarının üreaz enziminin aktif bölgesine dahil edilmesinden sorumlu olan aksesuar nikel bağlayıcı proteinleri (*UreD*, *UreE*, *UreF* ve *UreG*) kodlar (Şekil 2.11) (Maroncle ve diğ., 2006; Li ve diğ., 2014)



Şekil 2.11. *K. pneumoniae* üre operonunun genetik organizasyonu (Maroncle ve diğ., 2006).

Allantoin metabolizmasında hipervirülant *K. pneumoniae* izolatlarında bir diğer virülans faktördür. Allantoin, bazı bakterilerin nitrojen kaynağı olarak kullanabileceği nükleik asitlerden oluşan bir bozunma ürünüdür (Choby ve diğ., 2020). Allantoin metabolizmasından sorumlu 22 kb'lik bir kromozomal *all* gen lokusu, hipervirülent *K. pneumoniae* ile yüksek oranda ilişkilidir ve *K. pneumoniae*'nin neden olduğu karaciğer enfeksiyonunda önemli bir rol oynar. Hipervirülent *K. pneumoniae*'nin neden olduğu primer karaciğer apseleri, allantoin konsantrasyonunun arttığı diyabetes mellitus hastalarında sıklıkla görülür (Li ve diğ., 2014).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasallar ve Besiyerleri

Bu tez çalışmasında *K. pneumoniae* izolatlarının pasajlanması ve DNA izolasyonu aşamalarında kullanılan Luria-Bertani Broth ve Agar (LB) Merck (Almanya) firmasından temin edildi.

Moleküler çalışmalar için Taq DNA Polymerase Master Mix RED (2X) enzimi Ampliqon (Denmark) firmasından, 50X TAE Buffer, DNA Gel Loading Dye (6X), 100 bp DNA ladder ve Etidyum bromür Solüsyonu (10 mg/ml) ThermoFisher Scientific (USA) firmasından, Agarose CondaLab (İspanya) firmasından temin edildi.

3.1.2. *K. pneumoniae* İzolatları

Bu tez çalışmasına dahil edilen *K. pneumoniae* izolatları Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından temin edildi. Haziran- Aralık 2018 tarihleri arasında Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından 56 *K. pneumoniae* izolatı alındı. Bu izolatlar çeşitli kliniklerden gelen örneklerden kültür yöntemleri ile izole edildi ve VITEK® 2 otomatik sistem (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ile *K. pneumoniae* olarak tanımlandı. Gerçekleştirilen antibiyogramlar sonucunda 24 bakteri izolatında çoklu ilaç direncine sahip olduğu tespit edildi ve bu izolatlar çalışmaya dahil edildi.

3.1.3. Primerler

Çalışmada çoklu antibiyotik direncine sahip 24 *K. pneumoniae* izolatının virülans genlerinin belirlenmesinde PZR tekniği kullanıldı. PZR çalışmaları için gerekli olan primerler Sentebiolab (Ankara, Türkiye) firmasından temin edildi. Kullanılan primer çiftleri ve özellikleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan primerler

PZR tipi	Hedef Gen	Primer	Sekans (5'-3')	bç	Tm (°C)	Uzama süresi (sn)	Kaynak
Simpleks- PZR	<i>mpA</i>	Fwd	ACTGGGCTACCTCTGCTTCA	535	56	60	Zhao ve diğ., 2019
		Rev	CTTGCATGAGCCATCTTCA				
	<i>wcaG</i>	Fwd	GGTTGGKTCAGCAATCGTA	169	56	30	
		Rev	ACTATTCCGCCAACTTTTGC				
	<i>magA</i>	Fwd	GGTGCTCTTTACATCATTGC	1283	56	90	
		Rev	GCAATGGCCATTTGCGTTAG				
	<i>wabG</i>	Fwd	CGGACTGGCAGATCCATATC	683	56	60	
		Rev	ACCATCGGCCATTTGATAGA				
	<i>uge</i>	Fwd	GATCATCCGGTCTCCCTGTA	534	58	60	
		Rev	TCTTCACGCCTTCCTTCACT				
	<i>ybtA</i>	Fwd	ATGACGGAGTCACCGCAAAC	960	56	90	
		Rev	TTACATCACGCGTTTAAAGG				
	<i>iutA</i>	Fwd	GTTGCGATTCTACCCGTTCC	248	58	30	
		Rev	GCCCGGTGGTGTAATCTTC				
	<i>iroD</i>	Fwd	GCATAGGCGGATACGAACAT	556	58	60	
		Rev	CACAGGGCAATTGCTTACCT				
	<i>entB</i>	Fwd	ATTCCTCAACTTCTGGGGC	371	58	45	
		Rev	AGCATCGGTGGCGGTGGTCA				
<i>fimH</i>	Fwd	TGCTGCTGGGCTGGTTCGATG	688	58	60		
	Rev	GGGAGGGTGACGGTGACATC					
<i>mrkD</i>	Fwd	CCACCAACTATTCCCTCGAA	226	56	30		
	Rev	ATGGAACCCACATCGACATT					
<i>ureA</i>	Fwd	GACAAGCTGTTGCTGTTTACC	270	58	30		
	Rev	CGGGTTGTGAACGGTGAC					
<i>allS</i>	Fwd	CCGAAACATTACGCACCTTT	580	56	60		
	Rev	ATCACGAAGAGCCAGGTCAC					

Tablo 3.1. (devam); Çalışmada kullanılan primerler

PZR tipi	Hedef Gen	Primer	Sekans (5'-3')	bç	Tm (°C)	Uzama süresi (sn)	Kaynak
Multipleks PZR- Kapsül tipi	K1	Fwd	GGTGCTCTTTACATCATTGC	1283	58	120	Turton ve diğ., 2010
		Rev	GCAATGGCCATTTGCGTTAG				
	K2	Fwd	GACCCGATATTCATACTTGACAGAG	641			
		Rev	CCTGAAGTAAAATCGTAAATAGATGGC				
	K5	Fwd	TGGTAGTGATGCTCGCGA	280			
		Rev	CCTGAACCCACCCCAATC				
	K20	Fwd	CGGTGCTACAGTGCATCATT	741			
		Rev	GTTATACGATGCTCAGTCGC				
	K54	Fwd	CATTAGCTCAGTGGTTGGCT	881			
		Rev	GCTTGACAAACACCATAGCAG				
	K57	Fwd	CTCAGGGCTAGAAGTGTCAT	1037			
		Rev	CACTAACCCAGAAAGTCGAG				

3.2. YÖNTEM

3.2.1. İzolatlardan Total DNA İzolasyonu

K. pneumoniae izolatlarından total DNA izolasyonu Kaynatma Metodu kullanılarak gerçekleştirildi (Ausubel ve diğ., 1995). Bunu için izolatlardan tek koloni 3 ml LB broth besiyerinde 37°C’de 1 gece inkübe edildi. İnkübasyondan sonra kültürlerin 1.5 ml’si 12.000 g’de 3 dk. santrifüj edildi ve pellet kısmı toplandı. Pellet üzerine 300 µl steril distile su ilave edildi ve su banyosunda 10 dk. kaynatıldı. Ardından oda sıcaklığında soğumaya bırakılan süspansiyon 12.000 g’de 5 dk. santrifüj edildi. Pellete dokunmadan süspansiyon steril pipet ucu ile alınıp, yeni bir ependorf tüpüne aktarıldı. Toplanan süpernatantın 5 µl’si PZR reaksiyonu için kalıp DNA olarak kullanıldı.

3.2.2. Hiper mukoviskozitenin belirlenmesi

String test *K. pneumoniae* izolatlarında hiper mukoviskoziteyi tespit etmek için kullanılmıştır. String testi için *K. pneumoniae* izolatları EMB besiyerinde üretildi ve kolonilerin üzerine steril öze ile dokunulup yukarıya doğru çekildi. Yaklaşık >5 mm uzayan sümüksü koloniler hiper mukovite pozitif olarak değerlendirildi (Liu ve diğ., 2014).

3.2.3. *K. pneumoniae* Virülans Genlerin PZR ile Belirlenmesi

K. pneumoniae izolatlarında kapsül, LPS, siderofor ve azot kaynağı kullanımı ile alakalı 13 virülans gen PZR yardımı ile belirlendi.

Tüm PZR reaksiyonları 25 µl son hacimde 2X PCR Master Mix (Amplicon, Denmark)’ten 12.5 µl, 10 pmol/µl konsantrasyona sahip primer çiftlerinden 0.5 µl alınarak hazırlandı. Hazırlanan reaksiyonların üzerine 5 µl kaynatma yöntemi ile izole edilen DNA’larda ilave edildi.

PZR programları ilk denetürasyon basamağı 95°C’de 3 dk, daha sonra 34 döngü 95°C’de 45 sn., Tm sıcaklıklarında (Tablo 3.1) 45 sn., 72°C’de büyüklüklerine göre ve son uzama basamağı ise 72°C’de 5 dk. olacak şekilde oluşturuldu. Daha sonra PZR ürünleri etidyum bromür içeren %1’lik agaroz jel elektroforezinde 120 V’da 30 dk. yürütüldü ve U.V ışığı altında görüntülendi. DNA ladder bantları ile karşılaştırılacak genlerin varlığı tespit edildi

(Zhao ve diğ., 2019). Pozitif olarak değerlendirilen bantlardan birkaç örnek seçilerek DNA dizin analizleri gerçekleştirildi ve PZR'nın doğruluğu tespit edildi.

3.2.4. *K. pneumoniae* İzolatlarının Kapsül Serotipinin Belirlenmesi

K. pneumoniae izolatlarının K1, K2, K5, K20, K54 ve K57 kapsül tipleri Tablo 3.1'de verilen primerler vasıtasıyla gerçekleştirilen multipleks- PZR reaksiyonu ile belirlendi.

PZR reaksiyonu 25 µl son hacimde; 2X PCR Master Mix (AMPLIQON, Danimarka) karışımında 12.5µl, 10 pmol/µl ileri ve geri primerlerden 0.5 µl alınarak hazırlanandı. Kaynatma DNA yöntemi ile hazırlanan total DNA'lardan 5 µl herbir reaksiyona eklendi.

PZR programı ilk denetürasyon basamağı 95°C'de 3 dk, daha sonra 35 döngü 94°C'de 30 sn., 58°C'de 90 sn., 72°C'de 90 sn. ve son uzama basamağı ise 72°C'de 10 dk. olacak şekilde oluşturuldu. Daha sonra PZR ürünleri etidyum bromür içeren %1'lik agaroz jel elektroforezinde 120 V'da 30 dk. yürütüldü ve U.V ışığı altında görüntüledi (Turton ve diğ., 2010).

4. BULGULAR

4.1. *Klebsiella pneumoniae* İzolatları

Bu tez çalışmasına dahil edilen *K. pneumoniae* izolatları Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından temin edildi. Haziran- Aralık 2018 tarihleri arasında Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından 56 *K. pneumoniae* izolatı alındı. Bu izolatlar çeşitli kliniklerden gelen örneklerden kültür yöntemleri ile izole edildi ve VITEK® 2 otomatik sistem (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ile *K. pneumoniae* olarak tanımlandı.

VITEK® 2 otomatik sistem (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ile tanımlanan ve çoklu ilaç direncine sahip olduğu tespit edilen 24 *K. pneumoniae* izolatı bu tez çalışmasına dahil edildi ve özellikleri Tablo 4.1'de verildi. *K. pneumoniae* izolatlarının 13'ü (% 54.2) Yoğun Bakımdan, 4'ü (% 16.6) Üroloji Servisinden, 2'si Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları (% 8.3) Servisinden, 2'si Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisinden (% 8.3), 1'i (%4.2) Genel Cerrahi Servisinden, 1'i (%4.2) Dahiliye Servisinden ve 1'i (%4.2) Acil Servisten Mikrobiyoloji Laboratuvarına geldiği tespit edildi (Tablo 4.1).

K. pneumoniae izolatlarının 16'sı (% 66.7) idrar, 4'ü (% 16.6) yara, 2'si (% 8.3) Trakeal Aspirat Kültürü (TAK), 1'i (% 4.2) kan, 1'i (% 4.2) balgam örneğinden izole edildi (Tablo 4.1).

K. pneumoniae izolatlarının 8 farklı antibiyotik grubundan 16 farklı antibiyotiğe karşı direnç profilleri incelendi. İzolatların tamamı (% 100) ampisiline (AMP), % 92'si (22/24) 3. kuşak sefalosporinlerden seftriakson (CRO) ve seftazidime (CAZ), %87.5'i (21/24) 2. kuşak sefalosporinlerden sefuroksim (CXM) ve 3. kuşak sefalosporinlerden sefotaksime (CTX), % 79'u (19/24) trimetoprim-sülfametoksazole (SXT), % 75'i (18/24) 4. kuşak sefalosporinlerden sefepime (FEP), % 71'i (17/24) amoksisilim-klavulanik asite (AMP), % 58'i (14/24) gentamisine (GN), % 50'si (12/24) siproflaksasine (CIP), % 42'si (10/24) aztreonama (ATM), % 29'u (7/24) piperasilin-tazobaktama (TPZ) dirençli olduğu tespit edildi. Hiçbir izolatta amikasin (AK), imipenem (IMP), meropenem (MEM) ve ertapenem

(ERT) antibiyotiklerine karşı direnç tespit edilemedi. *K. pneumoniae* Kp12 izolatu test edilen 16 antibiyotikten 12'sine karşı direnç gösteren en dirençli izolattır (Tablo 4.1).

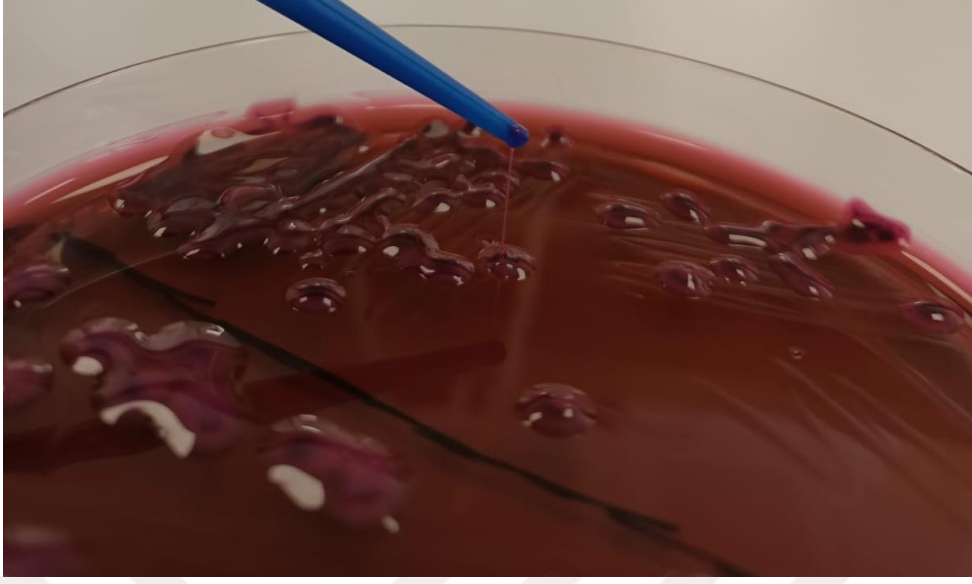
Tablo 4.1. *K. pneumoniae* izolatlarının özellikleri ve antibiyotik direnç profilleri

İzolat	Servis	Örnek	Antibiyotikler															
			AMP	AMC	TPZ	GN	AK	CXM	CTX	CRO	CAZ	FEP	SXT	CIP	ATM	IMP	MEM	ERT
Kp2	GC	Yara	D	D	D	D	H	D	D	D	D	D	D	H	D	H	H	H
Kp10	ÇSH	İdrar	D	H	H	H	H	D	D	D	D	D	D	D	D	H	H	H
Kp11	YB	Yara	D	H	H	H	H	D	D	D	D	D	D	H	D	H	H	H
Kp12	YB	Yara	D	D	D	D	H	D	D	D	D	D	D	D	H	H	H	H
Kp14	YB	İdrar	D	H	H	D	H	D	D	H	H	H	H	H	H	H	H	H
Kp15	EHKM	İdrar	D	D	H	D	H	D	D	D	D	D	H	H	H	H	H	H
Kp16	Üroloji	İdrar	D	D	H	H	H	D	D	D	D	D	D	H	H	H	H	H
Kp17	EHKM	Kan	D	D	H	D	H	D	D	D	D	D	H	H	H	H	H	H
Kp19	ÇSH	İdrar	D	D	D	H	H	D	D	D	D	D	D	H	D	H	H	H
Kp20	DAH	İdrar	D	D	D	H	H	D	D	D	D	H	D	H	H	H	H	H
Kp27	YB	İdrar	D	D	H	D	H	D	D	D	D	D	D	D	H	H	H	H
Kp32	Üroloji	İdrar	D	D	H	H	H	D	D	D	D	H	D	H	D	H	H	H
Kp33	YB	İdrar	D	H	H	D	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H
Kp36	YB	İdrar	D	H	H	H	H	D	D	D	D	D	D	H	H	H	H	H
Kp40	Üroloji	İdrar	D	D	H	H	H	H	H	D	D	H	D	D	H	H	H	H
Kp42	Acil	Yara	D	D	H	D	H	D	D	D	D	H	D	H	H	H	H	H
Kp45	YB	İdrar	D	D	D	H	H	D	D	D	D	D	D	H	D	H	H	H
Kp51	YB	TAK	D	H	H	D	H	D	D	D	D	D	D	D	H	H	H	H
Kp55	YB	İdrar	D	D	H	D	H	H	H	D	D	D	H	D	H	H	H	H
Kp56	YB	TAK	D	D	D	H	H	D	D	D	D	D	D	D	H	H	H	H
Kp59	YB	Balgam	D	D	D	D	H	D	D	D	D	D	D	D	H	H	H	H
Kp64	YB	İdrar	D	H	H	D	H	D	D	D	D	D	D	D	H	H	H	H
Kp66	Üroloji	İdrar	D	D	H	D	H	D	D	D	D	D	D	D	H	H	H	H
Kp67	YB	İdrar	D	D	H	D	H	D	D	D	D	D	H	D	H	H	H	H

GC: Genel Cerrahi, ÇSH: Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, YB: Yoğun Bakım, EHKM: Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, DAH: Dahiliye, Tak: Trakeal Aspirat Kültürü, AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin/Klavunolik Asit, TPZ: Tazobaktam/Piperasilik Asit, GN: Gentamisin, AK: Amikasin, CXM: Sefuroksim (II. Kuşak Sefalosporin), CTX: Sefotaksim (III. Kuşak Sefalosporin), CRO: Seftriakson (III. Kuşak Sefalosporin), CAZ: Seftazidim (III. Kuşak Sefalosporin), FEP: Sefepim (IV. Kuşak Sefalosporin), SXT: Trimethoprim/Sülfametaksazol, CIP: Siproflaksasin, ATM: Aztreonam, IMP: İmipenem, MEM: Meropenem, ERT: Ertapenem, D: Dirençli, H: Hassas

4.2. Hipermukoviskozite

İzolatların hipermukoviskozitesinin belirlenmesi için gerçekleştirilen string testi sonucunda 24 izolatın 1'inde hipermukoviskozite tespit edildi. *K. pneumoniae* Kp12 izolatının EMB besiyerindeki kolonilerine öze ile dokundurulduğunda kolonilerin >5 cm den daha fazla uzadığı tespit edildi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *K. pneumoniae* Kp12 izolatında string testi

4.3. *K. pneumoniae* İzolatlarından Virülans Gen İçeriği

4.3.1. Ekstrasellüler Kapsül Genleri

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında ekstrasellüler kapsül oluşumunu sağlayan *rmpA*, *wcaG* ve *magA* virülans genleri PZR yardımı ile incelendi. Gerçekleştirilen PZR analizleri sonucunda, izolatların hiçbirinde *wcaG* ve *magA* geni tespit edilemezken, izolatlardan 1'i (Kp12) *rmpA* geni açısından pozitif tespit edildi (Tablo 4.2) (Şekil 4.2).

4.3.2. Lipopolisakkarit (LPS) Genleri

Gerçekleştirilen bu çalışmada LPS oluşumunda kor oligosakkarit yapısında yer alan *wabG* ve O-antijeni ile ilişkili *uge* geni varlığı PZR yardımı ile incelendi. PZR çalışmaları sonucunda; izolatların tümü *uge* ve *wabG* geni bakımından pozitif olarak tespit edildi (Tablo 4.2) (Şekil 4.2).

4.3.3. Siderofor Genleri

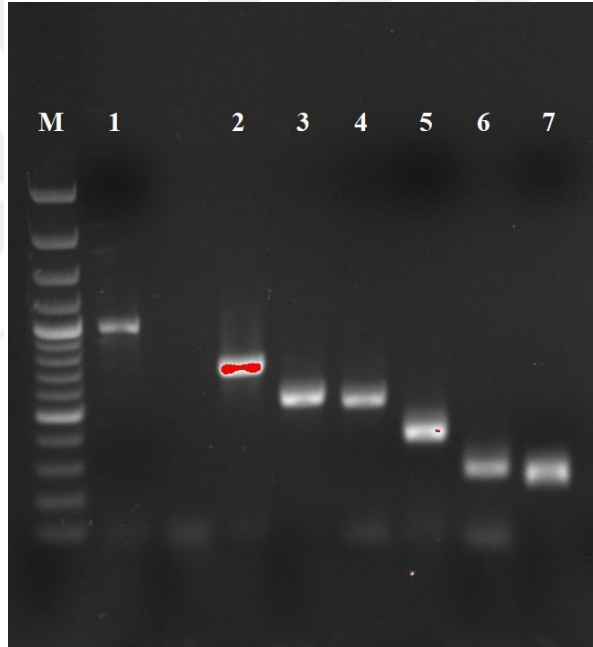
Çalışmada siderofor temelli demir alınımını sağlayan *iutA*, *ybtA*, *iroD* ve *entB* virülans genleri PZR yardımı ile incelendi. Gerçekleştirilen PZR analizleri sonucunda, izolatların 23'ü (% 96) *entB* ve 15'i (% 62.5) *ybtA* genleri açısından pozitif tespit edildi. İzolatların hiçbirinde *iutA* ve *iroD* geni tespit edilemedi (Tablo 4.2) (Şekil 4.2).

4.3.4. Fimbria Genleri

Çalışmada Tip-1 ve Tip-3 fimbria virülans genleri *fimH* ve *mrkD* genleri PZR yardımı ile incelendi. Gerçekleştirilen PZR analizleri sonucunda, izolatların 21'i (% 87.5) *mrkD* geni açısından pozitif tespit edildi. İzolatların hiçbirinde *fimH* geni tespit edilemedi (Tablo 4.2) (Şekil 4.2).

4.3.5. Nitrojen (Azot Kaynağı) Metabolizması Virülans Genleri

Çalışmada nitrojen metabolizmasında yer alan *ureA* ve *allS* virülans genleri PZR yardımı ile incelendi. Gerçekleştirilen PZR analizleri sonucunda, izolatların 2'si (% 8) *allS* ve 21'i (% 87.5) *ureA* genleri açısından pozitif tespit edildi (Tablo 4.2) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *K. pneumoniae* virülans genlerinin agaroz jel görüntüsü. M: Markır (100 bp+ DNA markır-ThermoFisher Scientific), 1- *K. pneumoniae* Kp12 *ybtA* geni, 2- *K. pneumoniae* Kp12 *wabG* geni, 3- *K. pneumoniae* Kp12 *uge* geni, 4- *K. pneumoniae* Kp2 *allS* geni, 5- *K. pneumoniae* Kp12 *entB* geni, 6- *K. pneumoniae* Kp2 *ureA* geni, 7- *K. pneumoniae* Kp12 *mrkD* geni

4.4. *K. pneumoniae* İzolatlarının Kapsül Tipi

Çalışmada *K. pneumoniae* izolatlarının K1, K2, K5, K20, K54 ve K57 kapsül tiplerinin belirlenmesi için gerçekleştirilen multipleks-PZR sonucunda izolatların hiçbirinde bu 6 tip kapsül tipi belirlenemedi (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının virülans gen içeriği

<i>K. pneumoniae</i> izolatları	Virülans Genler														
	Kapsül					LPS		Siderofor				Fimbria		Azot Kaynağı	
	<i>rmpA</i>	<i>wcaG</i>	<i>magA</i>	String test	Kapsül tipi	<i>wabG</i>	<i>uge</i>	<i>iutA</i>	<i>iroD</i>	<i>ybtA</i>	<i>entB</i>	<i>fimH</i>	<i>mrkD</i>	<i>ureA</i>	<i>allS</i>
Kp2	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+
Kp10	-	-	-	-	B	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
Kp11	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
Kp12	+	-	-	+	B	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
Kp14	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
Kp15	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
Kp16	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
Kp17	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
Kp19	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-
Kp20	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-
Kp27	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
Kp32	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
Kp33	-	-	-	-	B	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
Kp36	-	-	-	-	B	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
Kp40	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
Kp42	-	-	-	-	B	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+
Kp45	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
Kp51	-	-	-	-	B	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
Kp55	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
Kp56	-	-	-	-	B	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
Kp59	-	-	-	-	B	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-
Kp64	-	-	-	-	B	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
Kp66	-	-	-	-	B	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-

-; negatif, +; pozitif, B: belirlenemedi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

K. pneumoniae, hem toplumda hem de sağlık bakım ortamında artan morbidite ve mortaliteye yol açan çok çeşitli enfeksiyonlara neden olur. *K. pneumoniae*'nin patojenitesi, kapsül, endotoksinler, sideroforlar, demir tutucu sistemler ve adezinler gibi çeşitli virülans faktörlerinin varlığına bağlıdır. Bu faktörler, bu bakterinin bağışıklık sisteminden kaçmasına ve çeşitli enfeksiyonlara neden olmasına yardımcı olur (Remya vd., 2020).

1980'lerin ortalarında Tayvan'da ilk kez sağlıklı yetişkinlerde bile piyojenik karaciğer apseleri ve invaziv enfeksiyonlar üretme yeteneği açısından kKP'den farklı hvKP varyantları tanımlandı. Bununla beraber özellikler kKP'lerde nadiren gözükten hipermukoviskozite fenotipi hvKP varyantları için bir ayırt edici bir özellik oldu. *K. pneumoniae*'nin hipermuskoviskoz klonları ilk kez tanımlandığından beri, bunlar hipervirülans ile ilişkilendirilmiştir. İlk başta mukus koloniler üretmeleri ile karakterize edilen K1 ve K2 kapsüller serotipleri insanlar için oldukça patojenik olarak tanımlandı ve hipervirülans klonlar daha sık olarak bu fenotiple ilişkilendirildiler. Bununla birlikte, hipermuskoviskoz fenotipli ve farklı kapsüller serotiplere ait hvKP klonları artık dünya çapında tanımlanmıştır. *K. pneumoniae*'nin neden olduğu ilk invaziv enfeksiyon vakaları bildirildikten sonra, hipermuskoviskoz fenotip, hipervirülansın bir belirteci olarak kabul edildi ve bu ortaklık hala geniş çapta kabul görmektedir. Ayrıca, bu terimlerin tıp literatüründe eşanlamlı olarak kabul edilmeside hala yaygındır. Bununla birlikte “hipermuskoviskoz fenotip, hipervirülansın bir göstergesi midir?” sorusu hala net olarak açıklığı kavuşturulmamış bir sorudur (Catalan-Najera ve diğ., 2017).

hvKP'yı tanımlamak zordur. Hipermukoviskozite ve virülans genlerinin varlığı, hipervirülans için şart değildir. Bazı çalışmalar hipermukoviskozite özelliğine sahip K1/K2 serotipinde olmayan bazı izolatların, K1/K2 izolatları kadar karaciğer apsesine yol açtığını göstermiştir (Yürek, 2021).

Literatürdeki birçok farklı çalışmada hipervirülant izolatları tanımlamak için farklı virülans faktör genlerinin varlığını kullanmıştır. Bazı çalışmalar hvKP'yı tanımlamak için string test ile belirlenen hipermukoviskozite özelliğini (>5 mm) kullanmıştır (Albasha ve diğ., 2020;

Rastegar ve diğ., 2021). Diğ er bazı ç alışmalarda ise aerobaktin gen varlığı hvKP'yi tanımlamak için kullanılmıştır (Zhang ve diğ., 2016). Bunun yanında hvKP'yi tanımlamak için bazı ç alışmalarda birden fazla virülans faktörün varlığı araştırılmıştır. Xu ve ark. (2019) hvKP'ı tanımlamak için pLVPK-türevi lokuslarının (*iutA*, *iucA*, *rmpA*, *rmpA2*, *iroN*) varlığını kullanmıştır. Literatür incelendiği hipervirülans izolatların tanımlanmasında farklı tanımlamaların kullanıldığı dikkati çekmektedir. Gerçekleştirdiğimiz bu tez ç alışmasında da *rmpA* geni varlığı ve hiper mukoviskozitenin tespit edilmesi izolatları hv olarak tanımlamada kullanıldı. Bu tanımlama dikkate alınarak yapılan sınıflandırma sonuçlarına göre yalnızca Kp12 izolatu hv olarak değerlendirildi. Kp12 izolatının hipervirülans özelliğinin belirlenmesi için in-vivo hayvan denemelerin yapılması önemlidir ve bu deney sonucundaki patojenite Kp12 izolatının hv özelliğini tamamen yansıtacağı düşünölmektedir.

Kapsöl, bakterilerin fagositozdan korunması ve konakçı immün tepkisinin doğrudan inhibisyonu gibi iki patojenik mekanizmada yer alan önemli virülans faktörüdür. Bazı kapsöl (K) türleri, özellikle K1, K2, K54, K57, K20 ve K5, genellikle toplumd an edinilmiş invaziv piyojenik karaciğer apsesi sendromu, septisemi ve pnömoni ile ilişkilidir. K1, K2, K20, K54 ve K57, farelerde deneysel enfeksiyonlarda oldukça öldürücüdür ve genellikle insan ve hayvanlarda ciddi enfeksiyonlarla ilişkilidir (Zhang ve diğ., 2018). Gerçekleştirdiğimiz bu ç alışmada izolatların hiçbirinde bu kapsöl tipleri belirlenemedi. Bu genlerin yokluğu, bu ç alışmada izolatların hiçbirinin karaciğer veya apse örneğinden izole edilmediğini doğrular niteliktedir. Aynı sonuçlar 2015 yılında ölkemizde 50 klinik *K. pneumoniae* izolatu ile gerçekleştirilen bir ç alışmada da tespit edildi (Candan ve Aksöz, 2015).

Muskoviskozite ile ilişkili gen olan *magA* geninin daha sonra şaştırtıcı bir şekilde K1 lokusundaki (yani K1_wazy) *wzy* geni olduğu bulundu. Ek olarak, *magA* kapsöler polisakkarit sentezi için gereklidir ve hiper mukoviskozitede ve kompleman aracılı lizise karşı dirençte önemli bir rol oynar (Paczosa ve Mecsas, 2016). Gerçekleştirdiğimiz ç alışmada multipleks PZR sonucunda K1 serotipi tespit edilmemişti. Aynı zamanda hiçbir izolatta *magA* geni de tespit edilmedi. *RmpA*, mukoid fenotipin düzenleyicisi olarak tanımlanır. *rmpA* geni ya kromozom üzerinde ya da büyük bir virülans plazmidinde bulunur ve ağırlıklı olarak sadece hiper mukoviskozite (hmv) fenotipine sahip suşlarda bulunur. *rmpA* ve hmv/hv arasındaki korelasyon çok yüksektir ve *rmpA*'nın varlığı, potansiyel hvKP suşlarını tanımlamak için biyolojik belirteçler olarak önerilen bir dizi gen arasındadır (Walker ve Miller, 2020). Gerçekleştirilen tez ç alışmasında sadece *K. pneumoniae* Kp12 izolatında *rmpA*

gen varlığı tespit edilirken, yine bu izolatta yapılan string test sonucunda hipermukoviskoziteye sahip kapsül fenotipi tespit edildi. Çalışmamızda diğer izolatların tamamında kapsül bulunurken hipermukoviskoziteye sahip bir kapsül fenotipi tespit edilememiştir. İzolatların hmv fenotipine sahip olmaları ile hipervirülans arasındaki yüksek korelasyon düşünüldüğünde *K. pneumoniae* Kp12 izolatının potansiyel hipervirülans izolat olarak düşünülmektedir.

K. pneumoniae Kp12 izolatının antibiyotik direnç profili incelendiğinde 16 antibiyotığın 12'sine karşı gösterdiği direnç ile en dirençli izolat olduğu tespit edildi. Bu izolatın yüksek antibiyotik direnç oranına sahip olduğu düşünüldüğünde Kp12 izolatının hipervirülans bir izolat olma olasılığının yüksek olduğu bir kere daha gözükmemektedir. Kp12 izolatında tespit edilemeyen karbapenem direncinin plazmitler vasıtasıyla kazanılması, durumu daha da tehlikeli boyuta taşıyacağı düşünülmektedir.

LPS yapıda bulunan ve endotoksin özelliği olan *wabG* (çekirdek lipopolisakarit biyosentezinden sorumlu) ve *uge* (üridin difosfat galakturonat 4 epimeraz) gibi virülans faktörleri, kapsül üretiminde yer alır ve fagositoza direnç göstererek enfeksiyonu destekler. Aynı zamanda endotoksin ilişkili diğer bir gen olan *wcaG*, *K. pneumoniae* kapsül biyosentezinden de sorumludur. Bu genin varlığı, bakterilerin makrofajlar tarafından fagositozdan kaçma yeteneğini artırır. Çalışmamızdaki izolatların tümü *uge* ve *wabG* geni bakımından pozitif bulunurken, tümü *wcaG* geni bakımından negatiftir. Literatürde gerçekleştirilen çalışmalar incelendiğinde *uge* ve *wabG* genlerinin, klinik izolatlar arasında yaygın olarak bulunduğu gösterilir (Lin ve diğ., 2010; Yao ve diğ., 2015; Candan ve Aksöz, 2015; Zhang vd., 2018b; Zhao ve diğ., 2019). Izquierdo ve diğ. (2003), mutant *wabG* genine sahip *K. pneumoniae* suşlarının murin pnömoni modelinde (sıçanlarda) kapsül özelliğini yitirdiğini ve daha az virülan olduğunu göstermiştir. Bu gerçek, *wabG* geninin *K. pneumoniae* patojenitesindeki önemli rolünü kanıtlamaktadır. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında izolatlarının tümü *wabG* varlığı açısından pozitif bulunduğu düşünüldüğünde, *wabG* varlığının *K. pneumoniae* izolatlarının patojenitesinin temelinde yer aldığı öngörülmektedir.

Literatürde daha önceden yapılan hayvan çalışmaları, *uge* geni taşıyan *K. pneumoniae*'nin daha öldürücü olduğunu göstermiştir (Regue ve diğ., 2004). Farklı çalışmalarda *K. pneumoniae*'de *uge* geni varlığı çok değişkenlik göstermektedir. Remya ve diğ. (2019), yaptıkları çalışmada 370 klinik *K. pneumoniae* izolatının yaklaşık yarısında (% 48.6) *uge* geni tespit etti. Aljanaby ve Alhasani (2016), idrar yolu izolatlarının %84,6'sında ve tüm kan ve

solunum yolu izolatlarında *uge* geninin varlığını gözlemlemişlerdir. Candan ve Aksöz (2015), yaptıkları çalışmada 50 klinik *K. pneumoniae* izolatının 16'sının karbapenem hassas olduğunu ve bu izolatların %75'inin *uge* geni taşıdığını göstermişlerdir. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında elde edilen *uge* sonuçlarının literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Demir, bakterilerin çeşitli yaşam aktivitelerinde önemli bir rol oynar ve bu nedenle sideroforlar *K. pneumoniae* için çok önemlidir. Enterobaktin (Ent), aerobaktin, salmoglein, yersiniabaktin (YbtS) ve Kfu dahil olmak üzere demir edinme faktörleri, *K. pneumoniae* suşlarında virülans faktörleri olarak tanımlanmıştır. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında *Enterobacteriaceae* izolatlarında 4 temel demir alım mekanizmasının var olup olmadığı araştırıldı. Enterobaktin için *entB* geni, salmoglein için *iroD* geni, yersiniabaktin için *ybtA* geni ve aerobaktin için *iutA* geni PZR yardımı ile belirlendi. Çalışmamızda literatür ile uyumlu bir şekilde izolatların % 96'sında (23/24) *entB* geni, % 62.5'inde (15/24) *ybtA* geni tespit edildi. Çalışmamızda diğer demir alım mekanizmaları olan aerobaktin ve salmoglein sideroforları belirlenemedi. Literatürde gerçekleştirilen bir çok çalışmada enterobaktin sideroforu *K. pneumoniae* izolatlarında en yaygın görülen siderofordur ve birincil demir alım sistemi olarak kabul edilir (El Fertas-Aissani ve diğ., 2013; Yan ve diğ., 2016; Guo ve diğ., 2017; Rastegar ve diğ., 2019; Albasha ve diğ., 2020).

Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında izolatların tümü tip1 fimbria yönünden negatif bulunurken, % 87.5'i tip 3 fimbria içeriği pozitif olarak tespit edildi. *K. pneumoniae*'de *fimH* ve *mrkD* genleri, hücre dışı matrise bağlanmaya aracılık eden tip 1 ve tip 3 fimbria adezinlerini kodlar; biyofilm gelişimini teşvik eder ve kolonizasyon, istila ve patojenitede önemli bir rol oynar. Literatür incelendiğinde birçok klinik *K. pneumoniae* izolatında hem tip1 hemde tip 3 fimbriaların ekspres edildiği görülmektedir (Ferreira ve diğ., 2019). El Fertas-Aissani ve diğ. (2013) yaptıkları çalışmada çoğunlukla idrar (26), kan (11) ve irin (11) örneklerinden izole edilen 54 *K. pneumoniae* izolatında virülans gen içeriğini araştırdı. Yaptıkları çalışma sonucunda izolatın tümünde *fimH* geni, %96.3'ünde ise *mrkD* geni tespit edildi. Candan ve Aksöz (2015) yaptıkları çalışmada klinik örneklerden izole edilen 34'ü karbapenem dirençli, 16'sı karbapenem hassas olan toplamda 50 *K. pneumoniae* izolatının 28'inin *fimH*, 29'unun *mrkD* geni bakımından pozitif olduğunu tespit ettiler. Kuş ve diğ. (2017) yaptıkları çalışmada 2011-2013 yılları arasında çeşitli kliniklerde hastane enfeksiyonu tanısı almış hastalara ait örneklerden izole edilen 53 adet *K.pneumoniae* izolatında %83 *mrkD* gen pozitifliği, %64.2 *fimH* gen pozitifliği tespit ettiler. Ferreira ve diğ. (2019) yaptıkları

çalışmada Brezilya'daki yoğun bakım ünitelerinden alınan çeşitli klinik örneklerden karbapenem dirençli 25 *K. pneumoniae* izolatının %88'ini *fimH*, %96'sını *mrkD* pozitif olarak tespit ettiler. Literatür incelendiğinde klinik örneklerde *fimH* ve *mrkD* genlerinin yüksek sıklıkta bulunduğu göze çarpmaktadır. Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında hiçbir izolatta *fimH* geninin bulunamaması literatür ile uyumlu değildir.

Çalışmalar birçok klinik *K pneumoniae* izolatının normalde hem tip 1 hem de tip 3 fimbrial adezinleri eksprese ettiğini bildirmiş olsa da, *K. pneumoniae* enfeksiyonuna ilerlemedeki en önemli adımlardan biri, konakçı yüzeylere yapışma ve kalıcı kolonizasyon sergileme yeteneği ile ilgilidir. MrkD spesifik olarak hücre dışı matrise bağlanmaya aracılık ederek, *K. pneumoniae*'nin hasarlı dokuya yapışmasını ve üriner kateterler ve endotrakeal tüpler gibi kalıcı cihazları kaplamayı kolaylaştırır. Tip 3 fimbriaların *K. pneumoniae* biyofilm oluşumunda önemli bir rol oynadığı ve ayrıca *K. pneumoniae*'nin endotel hücrelere ve solunum ve idrar yollarının epitel hücrelerine bağlanmasına aracılık edebildiği bulunmuştur (Ferreira ve diğ., 2019). Bununla birlikte karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*'nin potansiyel virülans özellikleri hakkında çok az şey bilinmesine rağmen (Liu ve diğ., 2014), çalışmalar GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatlarının daha fazla fimbrial adezin ürettiklerini, daha invaziv olduklarını ve normal insan serumuna daha dirençli olduklarını bildirmiştir (Sahly ve diğ., 2004). Bu tez çalışmasında dahil edilen *K. pneumoniae* izolatlarının hiçbirinin karbapenem dirençli olmadığı belirlenmiştir. İzolatların karbapenem direncine sahip olmaması daha az fimbrial adezin ürettiklerini düşündürmektedir.

Allantoin metabolizması, bakterilerin çevrelerinden karbon ve nitrojen elde edebildiği bir yöntemdir. Allantoin metabolizması ile ilişkili gen (*allS*), bakteriler tarafından çevreden karbon ve nitrojen elde etmek için kullanılır (Chou ve diğ., 2014). Allantoin metabolizmasında yer alan genleri içeren bir operonun transkripsiyonu kKP suşlara kıyasla hvKP suşlarında daha fazla ekspres edildiği ve genlerin yukarı yönde regüle oldukları tanımlandı. Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında *K. pneumoniae* izolatlarının %8'inin *allS* geni taşıdığı tespit edildi. Candan ve Aksöz (2015) yaptıkları çalışmada 50 *K. pneumoniae* izolatının hiçbirinde *allS* gen içeriği tespit edememiştir. Remya ve diğ. (2019) yaptıkları çalışmada 370 klinik *K. pneumoniae* izolatın *allS* gen içeriğini %1 olarak tespit etmiştir. Xu ve diğ. (2019) yaptıkları çalışmada menenjit etkeni 44 *K. pneumoniae* izolatı ile çalışmışlardır. İzolatların 22 si virülans bir plazmit olan pLVPK-türevlerini taşıdığı için hv olarak değerlendirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda kKP izolatlarının hiçbirinde, hvKP

izolatlarının ise % 22.7'sinde allS gen içeriği tespit edilmiştir. Rastegar ve diğ. (2019) tarafından yapılan bir diğer çalışmada klinik örneklerden izole edilen 146 *K. pneumoniae* izolatında virülans genler araştırıldı. hvKP ve kKP izolatları arasında allS gen içeriği açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. allS gen içeriği hvKP ve kKP izolatlarında sırasıyla %9.1 ve % 3.2 şeklinde tespit edilmiştir. Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasındaki bulgularımız literatür ile uyumludur. Literatürde allS geninin primer karaciğer apsesi suşlarında sıklıkla saptandığı ve karaciğer absesinin patogenezinde belirleyici bir rol oynadığı vurgulanmaktadır (Ku ve ark. 2008; Paczosa ve Mecsas, 2016). Çalışmamızda allS gen içeriğinin düşük olması izolatların karaciğer absesinden izole edilmediği gerçeği ile uyumludur.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında klinik *K. pneumoniae* izolatlarının % 87.5'inde *ureA* geni varlığı tespit edildi. *K. pneumoniae* dahil olmak üzere birçok bağırsak patojeni, büyüme için bir nitrojen kaynağı olarak üreyi amonyağa ve karbondioksite hidrolize etmek için sitoplazmik üreaz üretebilir. *ureA*, üre metabolizmasında yer alan ve bakteriyel gastrointestinal kolonizasyon için gerekli olan üreaz operonu ile ilişkili bir genidir ve virülans belirteci olarak kullanılır (Andrade ve diğ., 2014). Literatürde gerçekleştirilen bir çok çalışmada insan, hayvan ve çevre kökenli hv veya hv olmayan *K. pneumoniae* izolatlarında *ureA* enziminin yaygın olarak bulunduğu görülmektedir. Atmani ve diğ. (2015) gerçekleştirdikleri çalışmada hastane atık suyundan izole edilen 52, atık sulardan izole edilen 84, belediye atık su temizleme tesisinden izole edilen 32 ve klinik örneklerden izole edilen 43 *K. pneumoniae* izolatında virülans gen içeriğini incelemiş ve tüm örneklerde *ureA* genini pozitif olarak tespit etmişlerdir. Zhan ve diğ. (2017) yaptıkları çalışmada 21 karbapenem dirençli klinik hvKP izolatının tümünün *ureA* geni içerdiğini tespit etmişlerdir. Zhao ve diğ. (2019) gerçekleştirdikleri çalışmada klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli hvKP izolatlarının %80'ininde *ureA* geni tespit etmişlerdir. Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında *K. pneumoniae* izolatlarının % 87.5'inde *ureA* geni pozitif olarak tespit edildi. Bu sonuçlar bu tez çalışmasında elde edilen *ureA* sonuçlarının literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında; Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı soklarından temin edilen klinik örneklerden izole edilmiş 24 *K. pneumoniae* izolatının virülans gen içeriği araştırıldı. Yapılan antibiyogram çalışmaları sonucunda izolatların çoklu antibiyotik direncine sahip olduğu ve

Kp12 izolatının en dirençli izolat olduğu tespit edildi. İzolatların virülans gen içeriği PCR yardımı ile ve hipermukoviskozite fenotipi string test ile belirlendi. Gerçekleştirilen deneyler sonucunda Kp12 izolatının hipermukoviskozite fenotipi ve *rmpA* geni içerdiği tespit edildi. Kp12 izolatı hvKP olarak olarak, diğer izolatlar ise kKP olarak değerlendirildi. Gerçekleştirilen kapsül tipi belirleme çalışmalarında izolatların hiçbirinin K1, K2, K5, K20, K54 ve K57 kapsül tipine sahip olmadığı belirlendi.



KAYNAKLAR

Albasha, A.M., Abd-Alhalim, S., Alshaib, E.F., Al-Hassan, L., Altayb, H.N., 2020, Detection of several carbapenems resistant and virulence genes in classical and hyper-virulent strains of *Klebsiella pneumoniae* isolated from hospitalized neonates and adults in Khartoum, *BMC Research Notes*, 13(1), 1-7.

Aljanaby, A.A., Alhasani, A.H., 2016, Virulence factors and antibiotic susceptibility patterns of multidrug resistance *Klebsiella pneumoniae* isolated from different clinical infections. *Afr J Microbiol Res*, 10, 829-3.

Andrade, L.N., Vitali, L., Gaspar, G.G., Bellissimo-Rodrigues, F., Martinez, R., Darini, A.L.C., 2014, Expansion and evolution of a virulent, extensively drug-resistant (polymyxin B-resistant), QnrS1-, CTX-M-2-, and KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 international high-risk clone, *Journal of clinical microbiology*, 52(7), 2530-2535.

Arato, V., Raso, M.M., Gasperini, G., Berlanda Scorza, F., Micoli, F., 2021, Prophylaxis and treatment against *Klebsiella pneumoniae*: current insights on this emerging anti-microbial resistant global threat, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8), 4042.

Atmani, S.M., Messai, Y., Alouache, S., Fernández, R., Estepa, V., Torres, C., Bakour, R., 2015, Virulence characteristics and genetic background of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from wastewater, *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(1), 103-112.

Ausubel, F.M., Brient, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A., Struhl, K., 1995, Short Protocols in Molecular Biology, 2nd ed., John Wiley & Sons, New York, N.Y., USA.

Bachman, M.A., Breen, P., Deornellas, V., Mu, Q., Zhao, L., Wu, W., Cavalcoli, J.D., Mobley, H.L.T, 2015, Genome-wide identification of *Klebsiella pneumoniae* fitness genes during lung infection, *mBio*, 6, e00775.

Bachman, M.A., Lenio, S., Schmidt, L., Oyler, J.E., Weiser, J.N., 2012, Interaction of lipocalin 2, transferrin, and siderophores determines the replicative niche of *Klebsiella pneumoniae* during pneumonia, *mBio*, 3, e00224- 11.

- Brisse, S., Passet, V., Haugaard, A.B., Babosan, A., Kassis-Chikhani, N., Struve, C., Decre, D., 2013, *wzi* gene sequencing, a rapid method for determination of capsular type for *Klebsiella* strains, *Journal of clinical microbiology*, 51(12), 4073-4078.
- Candan, E.D., Aksöz, N., 2015, *Klebsiella pneumoniae*: Characteristics of carbapenem resistance and virulence factors, *Acta Biochim Pol*, 62, 867-74.
- Catalan-Najera, J.C., Garza-Ramos, U., Barrios-Camacho, H., 2017, Hypervirulence and hypermucoviscosity: two different but complementary *Klebsiella* spp. phenotypes?, *Virulence*, 8(7), 1111-1123.
- Chan, Y.R., Liu, J.S., Pociask, D.A., Zheng, M., Mietzner, T.A., Berger, T., Mak, T.W., Clifton, M.C., Strong, R.K., Ray, P., Kolls, J.K., 2009, Lipocalin 2 is required for pulmonary host defense against *Klebsiella* infection, *J Immunol*, 182, 4947–4956.
- Chang, D., Sharma, L., Cruz, C.S.D., Zhang, D., 2021, Clinical epidemiology, risk factors, and control strategies of *Klebsiella pneumoniae* Infection, *Frontiers in Microbiology*, 3955.
- Cheng, K.S., Tang, H.L., Hsu, C.H., Lai, H.C., Yu, C.J., Chou, F.T., 2007, A clinical survey of *Klebsiella pneumoniae* virulence and genotype in pyogenic liver abscess, *Adv Ther*, 24, 589 -93.
- Choby, J.E., Howard-Anderson, J., Weiss, D.S., 2020, Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*—clinical and molecular perspectives, *Journal of internal medicine*, 287(3), 283-300.
- Chou, H.C., Lee, C.Z., Ma, L.C., Fang, C.T., Chang, S.C., Wang, J.T., 2004, Isolation of a chromosomal region of *Klebsiella pneumoniae* associated with allantoin metabolism and liver infection, *Infection and immunity*, 72(7), 3783-3792.
- Cortes, G., Borrell, N., de Astorza, B., Gomez, C., Sauleda, J., Alberti, S., 2002, Molecular analysis of the contribution of the capsular polysaccharide and the lipopolysaccharide O side chain to the virulence of *Klebsiella pneumoniae* in a murine model of pneumonia, *Infect Immun*, 70, 2583–2590.
- De Oliveira, D.M., Forde, B.M., Kidd, T.J., Harris, P.N., Schembri, M.A., Beatson, S.A., Paterson, D.L., Walker, M.J., 2020, Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens, *Clinical microbiology reviews*, 33(3), e00181-19.

Di Martino, P., Livrelli, V., Sirot, D., Joly, B., Darfeuille-Michaud, A., 1996, A new fimbrial antigen harbored by CAZ-5/ SHV-4-producing *Klebsiella pneumoniae* strains involved in nosocomial infections, *Infect Immun*, 64(6), 2266–2273.

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.

Ernst, C.M., Braxton, J.R., Rodriguez-Osorio, C.A., Zagieboylo, A.P., Li, L., Pironti, A., Manson, A.L., Nair, A.V., Benson, M., Cummins, K., Clatworthy, A.E., Earl A.M., Cosimi, L.A., Hung, D.T., 2020, Adaptive evolution of virulence and persistence in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Nat. Med.*, 26, 705–711.

Farzand, R., Rajakumar, K., Barer, M.R., Freestone, P.P., Mukamolova, G.V., Oggioni, M. R., O'Hare, H.M., 2021, A virulence associated siderophore importer reduces antimicrobial susceptibility of *Klebsiella pneumoniae*, *Frontiers in microbiology*, 12, 607512.

Fischbach, M.A., Lin, H., Zhou, L., Yu, Y., Abergel, R.J., Liu, D.R., Raymond, K.N., Wanner, B.L., Strong, R.K., Walsh, C.T., Aderem, A., Smith, K.D., 2006, The pathogen-associated *iroA* gene cluster mediates bacterial evasion of lipocalin 2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(44), 16502-16507.

Guerreiro, D.J.N., 2016, *Characterization of Klebsiella pneumoniae bacteriocalins*, Master thesis, Wellcome-Wolfson Institute for Experimental Medicine, Queen's University.

Guo, Y., Wang, S., Zhan, L., Jin, Y., Duan, J., Hao, Z., Lv, J., Qi, X., Chen, L., Kreiswirth, B.N., Wang, L., Yu, F., 2017, Microbiological and clinical characteristics of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* isolates associated with invasive infections in China, *Front Cell Infect Microbiol*, 7, 24.

Guo, X.P., Sun, Y.C., 2017, New insights into the non-orthodox two component *rcs* phosphorelay system, *Front Microbiol*, 8, 2014.

Holden, V.I., Lenio, S., Kuick, R., Ramakrishnan, S.K., Shah, Y.M., Bachman, M.A., 2014, Bacterial siderophores that evade or overwhelm lipocalin 2 induce hypoxia inducible factor 1a and proinflammatory cytokine secretion in cultured respiratory epithelial cells, *Infect Immun*, 82, 3826–3836.

- Hsieh, P.F., Lin, T.L., Yang, F.L., Wu, M.C., Pan, Y.J., Wu, S.H., Wang, J.T., 2012, Lipopolysaccharide O1 antigen contributes to the virulence in *Klebsiella pneumoniae* causing pyogenic liver abscess, *PLoS ONE*, 7(3), e33155.
- Izquierdo, L., Coderch, N., Pique, N., Bedini, E., Corsaro, M.M., Merino, S., Fresno, S., Tomas, J.M., Regue, M., 2003, The *Klebsiella pneumoniae* wabG gene: role in biosynthesis of the core lipopolysaccharide and virulence, *J Bacteriol*, 185(24), 7213–7221.
- Kochan, T.J., Nozick, S.H., Medernach, R.L., Cheung, B.H., Gatesy, S.W., Lebrun-Corbin, M., Hauser, A.R., 2022, Genomic surveillance for multidrug-resistant or hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* among United States bloodstream isolates, *BMC infectious diseases*, 22(1), 1-21.
- Ku, Y.H., Chuang, Y.C., Yu, W.L., 2008, Clinical spectrum and molecular characteristics of *Klebsiella pneumoniae* causing community-acquired extrahepatic abscess, *J Microbiol Immunol Infect*, 41, 311–317.
- Kuş, H., Arslan, U., Dağı, H.T., Fındık, D., 2017, Hastane Enfeksiyonu Etkeni *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Çeşitli Virülans Faktörlerinin Araştırılması, *Mikrobiyol Bul*, 51(4), 329-339.
- Lan, P., Shi, Q., Zhang, P., Chen, Y., Yan, R., Hua, X., Jiang, Y., Zhou, J., Yu, Y., 2020, Core genome allelic profiles of clinical *Klebsiella pneumoniae* strains using a random forest algorithm based on multilocus sequence typing scheme for hypervirulence analysis, *J Infect Dis*, 221, S263–S271.
- Lawlor, M.S., Handley, S.A., Miller, V.L., 2006, Comparison of the host responses to wild-type and *cpsB* mutant *Klebsiella pneumoniae* infections, *Infect Immun*, 74, 5402–5407.
- Lee, I.R., Molton, J.S., Wyres, K.L., Gorrie, C., Wong, J., Hoh, C.H., Teo, J., Kalimuddin, S., Lye, D.C., Archuleta, S., Holt, K.E., Gan, Y.H., 2016, Differential host susceptibility and bacterial virulence factors driving *Klebsiella* liver abscess in an ethnically diverse population, *Sci Rep*, 6, 29316.
- Li, B., Zhao, Y., Liu, C., Chen, Z., Zhou, D., 2014, Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*, *Future microbiology*, 9(9), 1071-1081.

- Lin, W.H., Wang, M.C., Tseng, C.C., Ko, W.C., Wu, A.B., Zheng, P.X., Wu, J.J., 2010, Clinical and microbiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae* isolates causing community-acquired urinary tract infections, *Infection*, 38(6), 459-464.
- Liu, Y., Li, B., Zhang, Y., Zhang, W., Shen, H., Li, H., Cao, B., 2014, Clinical and molecular characteristics of emerging hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in mainland China, *Antimicrob Agents Chemother*, 58, 5379– 85.
- Liu, Y.C., Cheng, D.L., Lin, C.L., 1986, *Klebsiella pneumoniae* liver abscess associated with septic endophthalmitis, *Arch Intern Med*, 146, 1913–1916.
- Lugo, J.Z., Price, S., Miller, J.E., Ben-David, I., Merrill, V.J., Mancuso, P., Weinberg, J.B., Younger, J.G., 2007, Lipopolysaccharide O-antigen promotes persistent murine bacteremia, *Shock*, 27, 186–191.
- Maroncle, N., Rich, C., Forestier, C., 2006, The role of *Klebsiella pneumoniae* urease in intestinal colonization and resistance to gastrointestinal stress, *Research in microbiology*, 157(2), 184-193.
- Murphy, C.N., Clegg, S., 2012, *Klebsiella pneumoniae* and type 3 fimbriae: nosocomial infection, regulation and biofilm formation, *Future Microbiol*, 7(8), 991–1002.
- Paczosa, M.K., Mecsas, J., 2016, *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 629-661.
- Podschun, R., Ullmann, U., 1998, *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology , Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors, *Clinical Microbiology Reviews*, 11(4), 589-603.
- Rastegar, S., Moradi, M., Kalantar-Neyestanaki, D., dedasht, A.G., Hosseini-Nave, H., 2021, Virulence Factors, Capsular Serotypes and Antimicrobial Resistance of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* and Classical *Klebsiella pneumoniae* in Southeast Iran. *Infect Chemother*, 53(1), e39.
- Regue, M., Hita, B., Pique, N., Izquierdo, L., Merino, S., Fresno, S., Benedi, V.J., Tomas, J.M., 2004, A gene, *uge*, is essential for *Klebsiella pneumoniae* virulence, *Infect Immun*, 72, 54–61.

- Regue, M., Izquierdo, L., Fresno, S., Pigue, N., Corsaro, M.M., Naldi, T., De Castro, C., Waidelich, D., Merino, S., Tomas, J.M., 2005, A second outer-core region in *Klebsiella pneumoniae* lipopolysaccharide, *J. Bacteriol*, 187(12), 4198–4206.
- Remya, P.A., Shanthi, M., Sekar, U., 2019, Characterisation of virulence genes associated with pathogenicity in *Klebsiella pneumoniae*, *Indian journal of medical microbiology*, 37(2), 210-218.
- Russo, T.A., Marr, C.M., 2019, Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, *Clinical microbiology reviews*, 32(3), e00001-19.
- Sahly, H., Aucken, H., Benedí, V.J., Forestier, C., Fussing, V., Hansen, D. S., Ofek, I., Podschun, R., Sirot, D., Tomas, J.M., Sandvang, D., Ullmann, U., 2004, Increased serum resistance in *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases, *Antimicrob Agents Chemother*, 48, 3477–3482.
- Santajit, S., Indrawattana, N., 2016, Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens, *BioMed research international*, 2016.
- Struve, C., Bojer, M., Krogfelt, K.A., 2009, Identification of a conserved chromosomal region encoding *Klebsiella pneumoniae* type 1 and type 3 fimbriae and assessment of the role of fimbriae in pathogenicity. *Infect Immun*, 77(11), 5016–5024.
- Tamou, C., 2021. Synergistic Effects of Meropenem and Conventional Antibiotics on Biofilms Formed by *Klebsiella pneumoniae*, Master thesis, College of Science and Mathematics California State University.
- Turton, J.F., Perry, C., Elgohari, S., Hampton, C.V., 2010, PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets, *J Med Microbiol*, 59(5), 541-547.
- Walker, K.A., Miller, V.L., 2020, The intersection of capsule gene expression, hypermucoviscosity and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae*, *Current opinion in microbiology*, 54, 95-102.
- 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.

Wu, C.C., Huang, Y.J., Fung, C.P., Peng, H.L., 2010, Regulation of the *Klebsiella pneumoniae* Kpc fimbriae by the site-specific recombinase KpcI, *Microbiology*, 156(Pt 7), 1983–1992.

Xu, M., Fu, Y., Fang, Y., Xu, H., Kong, H., Liu, Y., Chen, Y., Li, L., 2019, High prevalence of KPC-2-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* causing meningitis in Eastern China, *Infection and Drug Resistance*, 12, 641–653.

Yan, Q., Zhou, M., Zou, M., Liu, W.E., 2016, Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* induced ventilator-associated pneumonia in mechanically ventilated patients in China, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 35, 387-96.

Yao, B., Xiao, X., Wang, F., Zhou, L., Zhang, X., Zhang, J., 2015, Clinical and molecular characteristics of multi-clone carbapenem-resistant hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* isolates in a tertiary hospital in Beijing, China, *International journal of infectious diseases*, 37, 107-112.

Yeh, K.M., Kurup, A., Siu, L.K., Koh, Y.L., Fung, C.P., Lin, J.C., Chen, T.L., Chang, F.Y., Koh, T.H., 2007, Capsular serotype K1 or K2, rather than *magA* and *rmpA*, is a major virulence determinant for *Klebsiella pneumoniae* liver abscess in Singapore and Taiwan. *J Clin Microbiol*, 45, 466– 471.

Yürek, M., 2021, *Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Hipervirülan ve Klasik Klebsiella pneumoniae İzolatlarında Virülans Genleri ve Karbapenem Direnç Genlerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi.

Zhang, Y., Zhao, C., Wang, Q., Wang, X., Chen, H., Li, H., Zhang, F., Li, S., Wang, R., Wang, H., 2016, High prevalence of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* infection in China: geographic distribution, clinical characteristics, and antimicrobial resistance, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(10), 6115-6120.

Zhang, S., Yang, G., Ye, Q., Wu, Q., Zhang, J., Huang, Y., 2018, Phenotypic and genotypic characterization of *Klebsiella pneumoniae* isolated from retail foods in China, *Frontiers in microbiology*, 9, 289.

Zhang, X., Wang, L., Li, R., Hou, P., Zhang, Y., Fang, M., Hu, B., 2018b, Presence and characterization of *Klebsiella pneumoniae* from the intestinal tract of diarrhoea patients, *Letters in applied microbiology*, 66(6), 514-522.

Zhao, Y., Zhang, X., Torres, V.V.L., Liu, H., Rucker, A., Zhang, Y., Wang, J., Chen, L., Bi, W., Lin, J., Strugnell, R.A., Zhang, S., Lithgow, T., Zhou, T., Cao, J., 2019, An outbreak of carbapenem-resistant and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in an intensive care unit of a major teaching hospital in Wenzhou, China, *Frontiers in public health*, 7, 229.

Zhu, J., Wang, T., Chen, L., Du, H., 2021, Virulence factors in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, *Frontiers in Microbiology*, 12, 642484.



ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	SAHIB ABBAS WAHHAB AL-KUBAISI
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	<input type="checkbox"/> T.C. <input checked="" type="checkbox"/> Diğer:

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Al-Esra Üniversitesi
Fakülte	Medical Analysis
Bölümü	Medical Lab
Mezuniyet Yılı	2017

Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Biyoloji ve Genetik
Programı	Moleküler Biyoloji ve Genetik
Mezuniyet Tarihi	2022

Doktora	
Üniversite	
Enstitü Adı	
Anabilim Dalı	
Programı	Program Adı
Mezuniyet Tarihi	

Makale ve Bildiriler	
Al-Kubaisi, S.A.W., Sevim, E., 2022. Detection of Virulence Genes of <i>Klebsiella pneumoniae</i> Strains Isolated From Clinic Samples, International Euroasia Congress on Scientific Researches and Recent Trends 9, 18-20 February 2022, Antalya- Turkey.	