



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK
ANABİLİM DALI

NDM-1 KARBAPENEMAZ ÜRETEN KLİNİK
Klebsiella pneumoniae İZOLATLARINDA
ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN ve VİRÜLANS
GENLERİN KARAKTERİZASYONU

ÖMER KARAKAMIŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR / 2022



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

NDM-1 KARBAPENEMAZ ÜRETEN KLİNİK
Klebsiella pneumoniae İZOLATLARINDA
ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN ve VİRÜLANS
GENLERİN KARAKTERİZASYONU

Hazırlayan

ÖMER KARAKAMIŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. ELİF SEVİM

KIRŞEHİR / 2022

Bu çalışma 21.12.2022 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

Doç. Dr. Fikriye MİLLETLİ SEZGİN
Amasya Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Dr.Öğr. Üyesi Tuğba AVAN MUTLU
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp 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.

Ömer KARAKAMIŞ



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 aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.



ÖNSÖZ

Bu çalışma, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır.

Tez çalışmamın danışmanlığını yürüten, tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların sırasında gelişen problemlerin çözümünde bana yardımcı olan, çalışmamı adım adım takip ederek her türlü desteği sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Elif SEVİM'e teşekkürlerimi iletmeyi borç bilirim. Ayrıca tezimin her kademesinde şahsıma gösterdikleri iyi niyet, yakın arkadaşlık ve bilimsel yardımları için Prof. Dr. Ali SEVİM'e ve Doç. Dr. Fikriye MİLLETLİ SEZGİN'e minnet, sevgi ve saygılarımı sunarım. Çalışmaların sırasında özellikle Multi Lokus Suş Tiplendirmesinde yardımlarını benden esirgemeyen kıymetli hocam Doç. Dr. Tülin DEMİR'e en içten sevgi ve saygılarımı sunarım.

Benim bu günlere gelmemde büyük emeği olan, hayatım boyunca her zaman maddi ve manevi yanımda olan, desteğini hiç esirgemeyen başta ANNEM ve BABAM olmak üzere tüm aileme teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca her türlü desteğini esirgemeyen, maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan sevgili eşim Neslihan KARAKAMIŞ'a şükranlarımı sunuyorum.

Aralık, 2022

Ömer KARAKAMIŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç	2
1.2. Önem	2
2. GENEL KISIMLAR.....	4
2.1. <i>Enterobacteriaceae</i> Familyası	4
2.1.1. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Genel Özellikleri	6
2.2. Antibiyotikler ve Etki Mekanizmaları	7
2.3. Beta-Laktam (β -Laktam) Grubu Antibiyotikler	8
2.3.1. Karbapenemler	10
2.4. Antimikrobiyal Direnç Mekanizması	11
2.4.1. Doğal Direnç	11
2.4.2. Kazanılmış Direnç	12
2.5. Direnç Mekanizmaları	13
2.6. β -Laktamazlar	14
2.6.1. Karbapenamazlar (Karbapenem Direnci)	14
2.6.1.1. Sınıf A Karbapenamazlar	16
2.6.1.2. Sınıf B Karbapenamazlar (Metallo- β -Laktamazlar-MBL)	18
2.6.1.3. Sınıf D Karbapenamazlar (OXA- β -Laktamazlar).....	20
2.6.2. <i>K. pneumoniae</i> 'de Karbapenemaz Direncine Bakış	22
2.7. Hipervirülant <i>K. pneumoniae</i> (hvKP)	24
2.8. <i>K. pneumoniae</i> 'de Virülans Faktörleri	24
2.8.1. Kapsül	25
2.8.2. Lipopolisakkarit Yapı (LPS).....	28
2.8.3. Sideroforlar	29
2.8.4. Fimbrialar	31

3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	33
3.1. Materyal.....	33
3.1.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> İzolatları	33
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri	33
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Primerler	33
3.2. Yöntem	36
3.2.1. Çoklu Antibiyotik Direnç Fenotipi (MARP) ve Çoklu Antibiyotik Direnç İndeksi (MARI).....	36
3.2.2. KDKp İzolatlarından Total DNA İzolasyonu	36
3.2.2.1. Kaynatma Yöntemi ile DNA izolasyonu	37
3.2.2.2. Kit ile DNA İzolasyonu	37
3.2.3. KDKp İzolatlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Tespiti	37
3.2.4. KDKp izolatlarında <i>bla</i> _{CTX-M} Grup Alt-tiplerinin Belirlenmesi	39
3.2.5. KDKp İzolatlarında Sınıf-1 İntegron Gen Kasetlerinin Tespit Edilmesi	39
3.2.6. Klonlama Çalışmaları	40
3.2.6.1. Rekombinant Vektörün Yapılandırılması	40
3.2.6.2. Kompetent Hücre Hazırlaması.....	40
3.2.6.3. Transformasyon.....	40
3.2.6.4. Rekombinant Klonların Seçilimi.....	41
3.2.7. KDKp İzolatlarında Moleküler Epidemiyoloji.....	41
3.2.7.1. rep-PZR (Repetitive Extragenic Palindromic-PCR) Analizi	41
3.2.7.2. Multi-Lokus Sekans Tipi (Multi-Locus Sequence Typing-MLST)	42
3.2.8. KDKp İzolatlarının Virülans Gen İçeriğinin Belirlenmesi.....	42
3.2.9. Kapsül Serotipinin Belirlenmesi.....	43
3.2.10. GenBank Kabul Numaraları	44
4. BULGULAR.....	45
4.1. KDKp İzolatlarının İzolasyonu	45
4.2. KDKp İzolatların Çoklu Antibiyotik Direnç Fenotipi (MARP) ve Çoklu Antibiyotik Direnç İndeksinin (MARI) Belirlenmesi	45
4.3. KDKp İzolatlarında Antibiyotik Direnç Gen Profilleri	51
4.4. KDKp İzolatlarında Sınıf-1 İntegron Gen Kasetlerinin Belirlenmesi	58
4.5. KDKp İzolatlarında Virülans Genlerinin ve Kapsül Serotipinin Belirlenmesi	58
4.5.1. Kapsül.....	59
4.5.2. LPS	59
4.5.3. Fimbria	59
4.5.4. Siderofor.....	60

4.5.5. Azot Kaynağı Kullanımı	60
4.5.6. Kapsül Serotipi	60
4.6. KDKp İzolatlarının Moleküler Epidemiyolojisi	64
4.6.1. rep-PZR	64
4.6.2. Multi-Lokus Sekans Tipleri (MLST) Analizleri	66
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	69
KAYNAKLAR	85
ÖZGEÇMİŞ	100



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Antibiyotiklerin Etki Mekanizması.....	8
Şekil 2.2. Beta-laktam antibiyotikler.....	9
Şekil 2.3. β -laktam antibiyotiklerinin etki mekanizması.....	10
Şekil 2.4. Bakterilerde meydana gelen kazanılmış direnç mekanizmaları.....	13
Şekil 2.5. KPC üreten <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin epidemiyolojik özellikleri.....	17
Şekil 2.6. NDM üreten <i>K. pneumoniae</i> 'nin epidemiyolojik özellikleri.....	19
Şekil 2.7. OXA-48 benzeri karbapenemaz üreten <i>K. pneumoniae</i> 'nin epidemiyolojik özellikleri	21
Şekil 2.8. <i>K. pneumoniae</i> suşlarında virülans faktörleri	25
Şekil 2.9. <i>K. pneumoniae</i> 'de kapsül polisakkarit ve lipopolisakkarit yapı	26
Şekil 2.10. <i>cps</i> gen lokusu	27
Şekil 4.1. KDKp izolatlarında Sınıf-1 integron gen kasetlerinin şematik gösterimi.....	58
Şekil 4.2. <i>K. pneumoniae</i> Kp78 izolatının string test görüntüsü.....	59
Şekil 4.3. KDKp izolatlarında rep-PZR fragmentlerinin agaroz jel görüntüsü.....	64
Şekil 4.4. KDKp izolatlarının rep-PZR profilleri.....	65

TABLolar LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. <i>Enterobacteriaceae</i> ailesinin sınıflandırılması.....	5
Tablo 2.2. Bakteriyel β -laktamazların sınıflandırılması	15
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan primerler	34
Tablo 3.2. Tespit edilen genler için PZR parametreleri.....	38
Tablo 4.1. KDKp izolatların demografik ve klinik özellikleri ve antibiyotik duyarlılık profilleri.....	46
Tablo 4.2. KDKp izolatlarında antibiyotik direnç profilleri	51
Tablo 4.3. KDKp izolatlarında antibiyotik direnç genleri	53
Tablo 4.4. KDKp izolatlarında belirlenen antibiyotik direnç gen profilleri	57
Tablo 4.5. KDKp izolatlarının virülans gen profilleri ve kapsül genotipi	61
Tablo 4.6. KDKp izolatlarının Multi Lokus Sekans Tipleri (MLST).....	67

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
%	: Yüzde
°C	: Santigrad derece
Fe ⁺³	: Demir
α	: Alfa
β	: Beta

Kısaltmalar	Açıklama
hvKP	: hipervirülant <i>Klebsiella pneumoniae</i>
hmKP	: hiper mukoviskoz <i>Klebsiella pneumoniae</i>
kKP	: klasik <i>Klebsiella pneumoniae</i>
LPS	: Lipopolisakkarit
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
GSBL	: Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz
MBL	: Metallo Beta Laktamaz
KDKp	: Karbapenem Dirençli <i>Klebsiella pneumoniae</i>
KDE	: Karbapenem Dirençli <i>Enterobacteriaceae</i>
CPS	: Kapsül Polisakkarit
PMFQ	: Plazmit Aracılı Florokinolon
MLST	: Multi Lokus Sekans Tipi
MARP	: Çoklu Antibiyotik Direnç Profili
MARI	: Çoklu Antibiyotik Direnç İndeksi
NCBI	: National Center of Biotechnology Information
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
ST	: Sekans Tipi
NAM	: N- Asetil Muramikasit
NAG	: N- Asetil Glukozamin
PBP	: Penisilin Bağlayan protein
ÇİD	: Çoklu İlaç Direnci
HGT	: Horizontal Gen Transferi
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
Fwd	: Forward (İleri)
Rev	: Reverse (Geri)
U.V	: Ultra Viyole
a.a	: Amino asit
NaCl	: Sodyum Klorür
CaCl ₂	: Kalsiyum Klorür
dH ₂ O	: Su
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
MgSO ₄	: Magnezyum sülfat
EMB	: Eozin Metilen Blue
XLD	: Xylose Lysine Deoxycholate

LB	: Luria Bertani
ml	: Mililitre
μl	: Mikrolitre
U	: Unit
mg	: Miligram
μg	: Mikrogram
pmol	: Pikomol
nmol	: Nanomol
μM	: Mikromolar
mM	: Milimolar
bp	: Baz çifti
nm	: Nanometre
μm	: Mikrometre
mm	: Milimetre
sn	: Saniye
dk	: Dakika
g	:bağıl mekezkaç kuvveti
rpm	: dakika devir sayısı
V	: Volt
OD	: Optikal Yoğunluk
Tm	: Erime Sıcaklığı
yy	: Yüzyıl

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NDM-1 KARBAPENEMAZ ÜRETEK KLİNİK *Klebsiella pneumoniae* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN ve VİRÜLANS GENLERİN KARAKTERİZASYONU

ÖMER KARAKAMIŞ

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Elif SEVİM

Klebsiella pneumoniae, sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda en önemli patojenlerden biridir. Karbapenemler genellikle Genişletilmiş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL) üreten *K. pneumoniae*'lerin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılır. Ancak, yüksek ölüm oranlarıyla ilişkilendirilen karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'nin (KDKp) prevalansı son yıllarda artmaktadır. Bu durum dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Son zamanlarda, durumu daha da karmaşık hale getiren birkaç hipervirülant ve karbapenemaz üreten izolatlar rapor edilmiştir. Direnç ve virülans mekanizmalarını daha iyi anlamak ve dolayısıyla çoklu ilaca dirençli *K. pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonlara yönelik etkili tedavi stratejileri geliştirmek için daha kapsamlı genomik ve fenotipik verilere ihtiyaç vardır.

Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında; çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve Vitek-2 otomatize sistem ile tanımlanan 108 KDKp izolatı Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından temin edildi. Karbapenem dirençli 108 izolatın 53'ünün *bla*_{NDM-1} direnç genine sahip olduğu belirlendi ve bu izolatlar çalışmaya dahil edildi. KDKp izolatlarının GSBL (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{PER-1}, *bla*_{GES}, *bla*_{VEB}), karbapenemaz (*bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{KPC}, *bla*_{OXA-48}), plazmit aracılı florokinolon direnç genleri (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aac(6')*-

ib-cr) ve Sınıf-1 integron içeriği spesifik primerler kullanılarak PZR yardımı ile belirlendi. KDKp izolatlarının hipermukoviskoz özellikleri string testi ile, virülans gen taşıyıcılığı (*rmpA*, *magA*, *wcaG*, *uge*, *wabG*, *ycfM*, *fimH*, *mrkD*, *kpn*, *allS*, *ureA*, *entB*, *fepA*, *iroD*, *iroN*, *ybtA*, *fyuA*, *iutA*, *kfuBC*, *cnf-1*) multipleks ve simpleks PZR yardımı ile belirlendi. pLVPK-türevi lokuslarının (*iutA*, *rmpA*, *iroN*) varlığını hipervirülant izolatların belirlenmesinde kullanıldı. KDKp izolatlarının K-antijen tiplendirmesi *wzi* gen sekansları kullanılarak tespit edildi. İzolatlar arasındaki genetik akrabalık rep-PZR ile belirlenirken, epidemiyolojik olarak klonal benzerlikleri MLST analizi ile belirlendi.

Gerçekleştirilen bu tez çalışması sonucunda KDKp izolatlarının tümünün *bla*_{CTX-M1} ve *aac-6'-Ib-cr* genlerini taşıdığı tespit edildi. Bunu sırasıyla % 92.45 ile *bla*_{TEM}, % 90.56 ile *qnrS*, % 88.67 ile *bla*_{SHV} ve *bla*_{OXA-1}, % 71.69 ile *bla*_{OXA-48}, % 20 ile *bla*_{CTX-M2}, % 9.43 ile *qnrB* ve % 4 ile *bla*_{VEB} takip etmektedir. Gerçekleştirilen çalışmada hiçbir izolatda *qnrA*, *bla*_{PER-1}, *bla*_{GES}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, ve *bla*_{KPC} genleri tespit edilemedi. Sınıf-1 integron içerikleri incelendiğinde izolatların % 77.35'i In27 (*dfrA12-orfF-aadA2*) olarak sınıflandırıldı. KDKp izolatlarının % 63.37'si pLVPK-türevi lokusları (*iutA*, *rmpA*, *iroN*) beraber içerdiğinden hipervirülant olarak değerlendirildi. Gerçekleştirilen string test sonucunda izolatların % 9.43'ünün hipermukoviskoz fenotipe sahip olduğu tespit edildi. Aynı zamanda KDKp izolatlarında en yaygın K-antijen tipi % 84.90 oranı ile *wzi64* olarak tespit edildi. MLST analizleri sonucunda KDKp izolatları arasında en yaygın ST tipi 53 izolatın 38'inde (% 71.69) belirlenen ST2096 tipidir.

Bu çalışma, *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem direncinin, virülans faktörlerinin, K-antijen tipinin ve epidemiyolojik olarak izolatların klonal benzerliklerinin bir arada araştırıldığı detaylı bir çalışmadır. Gerçekleştirilen bu tez çalışması hem karbapenem dirençli enfeksiyonların yayılmasını önlemek hem de etkili tedaviler geliştirmeyi planlamak açısından önemlidir.

Aralık 2022, 118 sayfa

Anahtar Kelimeler: Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* (KDKp), hipervirülans, K-antijeni, ST2096

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

CHARACTERIZATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE AND VIRULANCE GENES IN CLINICAL *Klebsiella pneumoniae* ISOLATES PRODUCING NDM-1 CARBAPENEMASE

ÖMER KARAKAMIŞ

Kırşehir Ahi Evran University
Graduate School of Sciences and Engineering
Molecular Biology and Genetic Department

Supervisor: Prof. Dr. Elif SEVİM

Klebsiella pneumoniae is one of the most important pathogens in healthcare-related infections. Carbapenems are often used to treat infections caused by *K. pneumoniae*, which produce Extended spectrum β -lactamases (ESBL). However, the prevalence of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* (KDKp), which is associated with high mortality rates, has been increasing in recent years. This situation has become an important public health problem worldwide. Recently, several hypervirulent and carbapenemase-producing isolates which further complicates the situation have been reported. More comprehensive genomic and phenotypic data are needed to better understand the mechanisms of resistance and virulence, and therefore to develop effective treatment strategies for infections caused by multidrug-resistant *K. pneumoniae*.

In this study, 108 KDKp isolates isolated from various clinical samples and defined by Vitek-2 automated system were obtained from the stocks of Kırşehir Ahi Evran University Training and Research Hospital, Microbiology Laboratory. Of the 108 carbapenem-resistant isolates, 53 were found to have the bla_{NDM-1} resistance gene, and these isolates were included in the study. ESBL (bla_{TEM} , bla_{SHV} , bla_{CTX-M1} , bla_{CTX-M2} , bla_{OXA-1} , bla_{PER-1} , bla_{GES} and bla_{VEB}), carbapenemase (bla_{VIM} , bla_{IMP} , bla_{NDM-1} , bla_{KPC} and bla_{OXA-48}), plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes ($qnrA$, $qnrB$, $qnrS$, $aac(6')-ib-cr$) and

Class-1 integron content of KDKp isolates were determined by PCR using specific primers. Hypermucoviscous properties of KDKp isolates were determined by string test and virulence gene content (*rmpA*, *magA*, *wcaG*, *uge*, *wabG*, *ycfM*, *fimH*, *mrkD*, *kpn*, *allS*, *ureA*, *entB*, *fepA*, *iroD*, *iroN*, *ybtA*, *fyuA*, *iutA*, *kfuBC* and *cnf-1*) was determined by multiplex and simplex PCR. The presence of pLVPK-derivative loci (*iutA*, *rmpA*, *iroN*) was used to determine hypervirulent isolates. K-antigen typing of KDKp isolates was determined using *wzi* gene sequences. While the genetic relatedness between the isolates was determined by rep-PCR, their epidemiological clonal similarities were determined by MLST analysis.

As a result of this thesis study, it was determined that all of the KDKp isolates carried the *bla*_{CTX-M1} and *aac-6'-Ib-cr* genes. This is followed by *bla*_{TEM} with 92.45%, *qnrS* with 90.56%, *bla*_{SHV} and *bla*_{OXA-1} with 88.67%, *bla*_{OXA-48} with 71.69%, *bla*_{CTX-M2} with 20%, *qnrB* with 9.43% and *bla*_{VEB} with 4%. In the study, *qnrA*, *bla*_{PER-1}, *bla*_{GES}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, and *bla*_{KPC} genes could not be detected in any isolate. When the class-1 integron contents were examined, 77.35% of the isolates were classified as In27 (*dfrA12-orfF-aadA2*). 63.37% of the KDKp isolates were evaluated as hypervirulants because they contained all pLVPK-derivative loci (*iutA*, *rmpA*, *iroN*). As a result of the string test, it was found that 9.43% of the isolates had hypermucoviscous phenotype. At the same time, the most common K-antigen type in KDKp isolates was *wzi*₆₄ with a rate of 84.90%. As a result of MLST analysis, the most common ST type among KDKp isolates is ST2096, which was determined in 38 of the 53 isolates (71.69%).

This is a detailed study in which carbapenem resistance, virulence factors, K-antigen type, and epidemiological clonal similarities of *K. pneumoniae* isolates are investigated. This thesis study is important both to prevent the spread of carbapenem-resistant infections and to plan to develop effective treatments.

December 2022, 118 pages

Keywords: Carbapenem-resistant *K. pneumoniae* (KDKp), hypervirulence, K-antigen, ST2096

1. GİRİŞ

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) *Enterobacteriaceae* familyasına ait Gram negatif bir bakteridir. Bu bakteriler hem toprak hem de su ortamlarında her yerde bulunur, ancak insanlar tipik olarak *K. pneumoniae* enfeksiyonları için birincil rezervuar olarak kabul edilirler. *K. pneumoniae* başlangıçta 100 yıl önce 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 gelmiştir. 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 Meccas., 2016). İlk olarak 1980'lerde Tayvan'da endoftalmi ile birlikte karaciğer apsesine neden olan benzersiz bir *K. pneumoniae* vakası rapor edilmiş ve etken organizma hipervirulent *K. pneumoniae* (hvKP) olarak belirlenmiştir (Liu ve diğ., 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 edilmiştir (Lan ve diğ., 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 da giderek daha dirençli hale gelmiş ve bu durum suşların neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmeyi çok zor hale getirmiştir. Hipervirulent ve antibiyotiğe dirençli suşların ortaya çıkması bu durumu daha da kötü bir hale getirmiştir (Paczosa ve Meccas., 2016). Bu patotip özelliği *K. pneumoniae*'ye ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri) patojenleri arasında bir yer kazandırmıştır (De Oliveira ve diğ., 2020).

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. Konakçıya girdikten sonra, istilacı mikroorganizmalar, tanıma reseptörleri aracılığıyla bağışıklık hüccreleri 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 hüccreler ve abiyotik yüzeylere bakteriyel yapışmayı destekler. *K. pneumoniae* suşlarındaki Lipopolisakkarit yapı (LPS), kısmen modifiye edilebilir ve bu, *K. pneumoniae*'nin konakçı hüccre tarafından tanınmamasına yol açar. İnflamatuar 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

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

1.2. Önem

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. Patojenik *K. pneumoniae*, birden fazla türde virülans geni barındırır. *K. pneumoniae*'nin barındırdığı 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.

Günümüzde oldukça tehlike arz edici durumda olan antibiyotik direnci küresel halk sağlığı için ciddi bir tehdittir. Dirençli bakterilerin yayılması mortalite, morbidite ve tedavi maliyetinde dramatik bir artışa yol açmaktadır. Antibiyotik direnç mekanizmalarının ayrıntılı olarak bilinmesi klinik tedavi yöntemlerinin ve antibiyotik kullanımında ülke politikalarının belirlenmesinde oldukça önemlidir. Çoklu ilaç direncine sahip bakterilerin yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde son seçenek olarak kullanılan karbapenem grubu antibiyotiklere karşı direnç gelişimi üzerinde durulması ve araştırılması gereken bir konudur. Karbapenem dirençli Gram-negatif patojenlerin ortaya çıkması, dünya çapında halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Özellikle, karbapenem dirençli *K. pneumoniae* prevalansının artması önemli bir endişe kaynağıdır.

Son zamanlarda klinisyenler için daha endişe verici bir durum göze çarpmaktadır; hipervirülans özelliğine sahip karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının ortaya çıkışı. Bu durumun yoğun bakım ünitelerinde salgınlara yol açabileceği düşünüldüğünde bu izolatların prevalansının belirlenmesi ve özelliklerinin ortaya çıkarılması enfeksiyonların kontrolü ve salgınlara önlenmesi açısından çok önemlidir.

2. GENEL KISIMLAR

2. 1. *Enterobacteriaceae* Familyası

Enterik bakteriler olarakda isimlendirilen *Enterobacteriaceae* familyası tıbbi açıdan önemli olan, birçok gram negatif bakteriyi içerir. *Enterobacteriaceae* üyeleri doğada oldukça geniş yayılıma sahip olup bitkilerde, toprakta, suda, insan ve çoğu sıcak kanlı hayvanların doğal bağırsak florasında bulunurlar (Murray ve diğ., 2010).

Enterobacteriaceae familyası Gram negatif çubuk şeklinde, tipik olarak 1–5 µm uzunluğundadır. Çoğu, hareket etmek için kullanılan birçok kamçıya sahiptir, ancak birkaç cins hareketsiz ve bağırsak florasının normal sakinlerini oluşturan bakterilerdir. Ayrıca bu familya üyeleri sistitten piyelonefrite, septisemi, pnömoni, peritonit, menenjit ve cihazla ilişkili enfeksiyonlara kadar ciddi enfeksiyonlara sebep olan bakterileride içerir. *Escherichia coli*, insanlar için açık ara en önemli patojen olup hem toplum hem de hastane kaynaklı enfeksiyonların en yaygın kaynağıdır (Nordman ve diğ., 2012).

Enterobacteriaceae kanlı agarda tipik olarak orta ila büyük boyutlu gri koloniler olarak görünürler, ancak bazıları pigmentleri oluşturabilir. *Enterobacteriaceae* üyelerinin çoğu bakteriyel hücrelerin konakçalarına yapışmasında rol oynayan peritriş Tip 1 fimbriyalar sahiptir. Bu familya üyeleri spor oluşturmazlar (Brenner ve diğ., 2005).

Enterobacteriaceae familya üyesi bakteriler yüksek virülans potansiyeline sahiptir. Bu virülans faktörler taşıdıkları antijenik yapılar (O-somatik, H-flagella ve K-kapsül antijeni), endo ve ekzotoksinleri, adhezin ve kapsül proteinleri verilebilir. Bu grup içinde tüm aileye veya her bir suşa ayrı ayrı özel çeşitli virülans faktörleri tanımlanmıştır. Bu virülans faktörlerinin kromozomal, plazmid ve faj DNA'sında bulunmakta, bakteriler arasında aktarılabilmektedir (Murray, 2010; Kumar, 2012).

Enterobacteriaceae üyeleri insanlarda oluşan bakterimilerde, idrar yolu enfeksiyonlarının çoğunda ve intestinal enfeksiyonlarda sıklıkla izole edilirler. Bazıları doğal flora üyesi olarak fırsatçı enfeksiyona sebep olurken, bazıları da sadece insanda enfeksiyona sebep

olur. Fırsatçı patojenlere örnek olarak *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *Proteus mirabilis*; sadece insanda enfeksiyona neden olan bakterilere örnek olarak *Salmonella typhi*, *Shigella* türleri, *Yersinia pestis* verilebilir. Endojen yayılımla, taşıyıcı insandan veya hayvan rezervuardan bulaşarak vücudun neredeyse her bölgesinde enfeksiyona sebep olabilirler. *Enterobacteriaceae* ailesine ait bazı cins ve türler Tablo 2.1’de gösterilmiştir (Alay Kara, 2018).

Tablo 2.1. *Enterobacteriaceae* ailesinin sınıflandırılması

Familya	Cins	Tür
I. Escherichieae	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. blatae</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. fergusonii</i> , <i>E. hermannii</i>
	<i>Shigella</i>	<i>S. dysenteriae</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. boydii</i> , <i>S. sonnei</i>
II. Edwardsiellae	<i>Edwardsiella</i>	<i>E. tarda</i> , <i>E. hoshina</i> , <i>E. ictaluri</i>
III. Salmonelleae	<i>Salmonella</i>	<i>S. typhi</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>S. paratyphi A</i> , <i>S. enteridis</i> , <i>S. gallinarum</i> , <i>S. pullorum</i>
IV. Citrobacteriaceae	<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii</i> , <i>C. diversus</i> , <i>C. amalonaticus</i>
V. Klebsielleae	<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i> , <i>K. ozanae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>K. rhinoscleromatis</i> , <i>K. planticola</i> , <i>K. terrigena</i> , <i>K. omithinolytica</i>
	<i>Enterobacter</i>	<i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. agglomerans</i> , <i>E. amnigenus</i> , <i>E. sakazakii</i> , <i>E. gergoviae</i> , <i>E. dissolvens</i> , <i>E. taylorae</i> , <i>E. nimipressuvali</i> , <i>E. nimipressuvalis</i> , <i>E. asburiae</i> , <i>E. hormaechei</i>
	<i>Hafnia</i>	<i>H. alvei</i>
	<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i> , <i>S. lique</i> , <i>S. liquefaciens</i> , <i>S. rubidaea</i> , <i>S. fonticola</i> , <i>S. odorifera</i> , <i>S. plymuthica</i> , <i>S. ficaria</i>
VI. Proteeae	<i>Proteus</i>	<i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. pennei</i> , <i>P. myxofaciens</i>
	<i>Morganella</i>	<i>M. morganii</i>
	<i>Providencia</i>	<i>P. alcalifaciens</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. rustigianii</i>
VII. Yersinieae	<i>Yersinia</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i> , <i>Y. pestis</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>Y. frederiksenii</i> , <i>Y. kristensenii</i> , <i>Y. intermedia</i> , <i>Y. ruckeri</i> , <i>Y. aldovae</i>
VIII. Erwinieae	<i>Erwinia</i>	<i>E. amylovora</i> , <i>E. carotovora</i>
Herhangi bir aile içine yerleştirilmemiş cinsler	<i>Arsenophonus</i> , <i>Leclercia</i> , <i>Pragia</i> , <i>Budvicia</i> , <i>Leminorella</i> , <i>Rahnella</i> , <i>Buttiauxella</i> , <i>Moellerella</i> , <i>Tatumella</i> , <i>Cedecea</i> , <i>Obesumbacterium</i> , <i>Xenorhabdus</i> , <i>Kluyvera</i> , <i>Pantoea</i> , <i>Yokonella</i>	

Enterobacteriaceae ailesindeki çoğu bakteriler sporsuz, peritriş kirpiklerle hareketli ya da hareketsiz, pepton ya da et özlü besiyerinde NaCl ve bir başka madde ilavesi olmadan üreyebilirler. Ayrıca MacConkey agarda, aerop ve anaerop ortamların her ikisinde de üreyebilirler. Glukozdan fermentasyonla asit oluşturur ve bunun yanı sıra çoğunlukla gaz oluştururlar. Katalaz pozitif, oksidaz negatiftirler. Nitratı nitrite çevirebilirler ve DNA'da Guanin+Sitozin (G+C) oranları % 39–59 arasındadır (Abiha, 2013).

2.1.1. *Klebsiella* Türlerinin Genel Özellikleri

Klebsiella cinsi *Proteobacteria* şubesinde, *Gammaproteobacteria* sınıfında, *Enterobacteriales* takımında, *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alır. *Klebsiella* türlerinin iki tür doğal yerleşim yeri vardır. Bunlardan biri, su yüzeyleri, lağımlar, toprak ve bitkilerden oluşan çevredir. Diğer yandan insanlar, atlar veya domuzların mukozal yüzeylerine kolonize olurlar. Gaitadan yakalanma oranı % 5-38 oranında değişirken bu oran nazofarenkste % 1-6'dır. Genellikle bu bölgelerde floranın geçici üyeleri olarak kabul edilirler. Bu taşıyıcılık oranları hastane ortamında değişiklik gösterir. Hastanede kalma süresinin uzamasına bağlı olarak kolonizasyon oranı artmaktadır. Yapılan çalışmalarda hastalardaki taşıyıcılık oranları, gaitada % 77, farenkste % 19, hastaların ellerinde ise % 42 oranında bulunmuştur (Aydoğan ve Başustaoğlu, 2000).

Klebsiella cinsi adını, 19.yy'ın sonlarında yaşamış, Alman mikrobiyoloğu Edwin Klebs'den almıştır. Daha sonraları *K. pneumoniae*'nin yaptığı ağır öldürücü pnömoni tablosunu araştırmacı Carl Friedlander ayrıntılı bir biçimde tanımlanmıştır. Bundan dolayı *K. pneumoniae* yıllarca 'Friedlander basili' olarak adlandırılmıştır (Yalçın, 2010).

Klebsiella suşları, buyyon, jeloz, kanlı jeloz, MacConkey, EMB, XLD gibi besiyerlerinde ürerler. Fakültatif anaeropturlar. Optimal üreme ısısı 37°C'dir. Ancak *K. pneumoniae* dışındaki suşlar 4-44°C'de ürerler. Optimal üreme ısısından daha düşük sıcaklıklarda kapsül oluşturma şansı daha fazladır. Suşların çoğu geniş kapsül oluşturup, katı besiyerlerinde büyük (3-4 mm), mukoid, akıcı koloniler oluşturur (M kolonileri). Dik jeloz veya jelatin besiyerinde yüzeyde yayvan bombeli bir üreme besiyerinin dibine doğru ise dar bir üreme zonu görülür. Buna çivi gibi üreme de denir. Kapsül oluşturmayan suşlar düzensiz ve R tipi koloniler oluştururken, bazıları daha az kapsül oluşturur ve S tipi koloniler görünümünde olur. 55°C'de 30-45 dakika ısıtmak öldürücüdür (Bilgin, 2006).

Klebsiella'nın patojenisitesinde oluşturdıkları ekzotoksinler, kapsüller, adhezinler, lipopolisakaritler (LPS), hemolizinler ve sideroforlar gibi farklı faktörler önemli rol oynar. Çoğu *Klebsiella* izolatı, yapısal olarak ifade edilen kromozomal A β -laktamazları nedeniyle ampisiline doğal olarak dirençlidir. Geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi yapabilen organizmalar arasında *K. pneumoniae* önemli bir patojendir. *Klebsiella* cinsinin üyeleri, özellikle *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*, pnömoni, septisemi, idrar yolu enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, yoğun bakım ünitesi enfeksiyonları ve enterotoksik suşların neden olduğu ishal semptomları olan bağırsak yolu enfeksiyonları gibi ciddi nozokomiyal enfeksiyonlarla ilişkili fırsatçı patojenlerdir. *K. pneumoniae*, yüksek morbidite ve mortalite oranlarıyla ilişkili olarak hem toplumda kazanılmış hem de hastane kaynaklı enfeksiyonların ortak bir patojenidir. *K. pneumoniae* herhangi bir yaş grubunda enfeksiyonlara neden olabilir; ancak, bunlar çok genç, çok yaşlı ve bağışıklığı zayıflamış kişilerde yaygındır (Gündoğan, 2014).

Klebsiella cinsi içinde 3 tür insanlarda hastalık yapar. Bunlar; *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *K. granulomatis*'tir. En sık enfeksiyon etkeni olan tür *K. pneumoniae*'dir. Bu bakteri sağlıklı insanların % 5'inde bağırsaklarda kolonize halde bulunurken, hastanede yatan hastalarda prevalansı yaklaşık % 20'lere kadar çıkar (Çakmak, 2019).

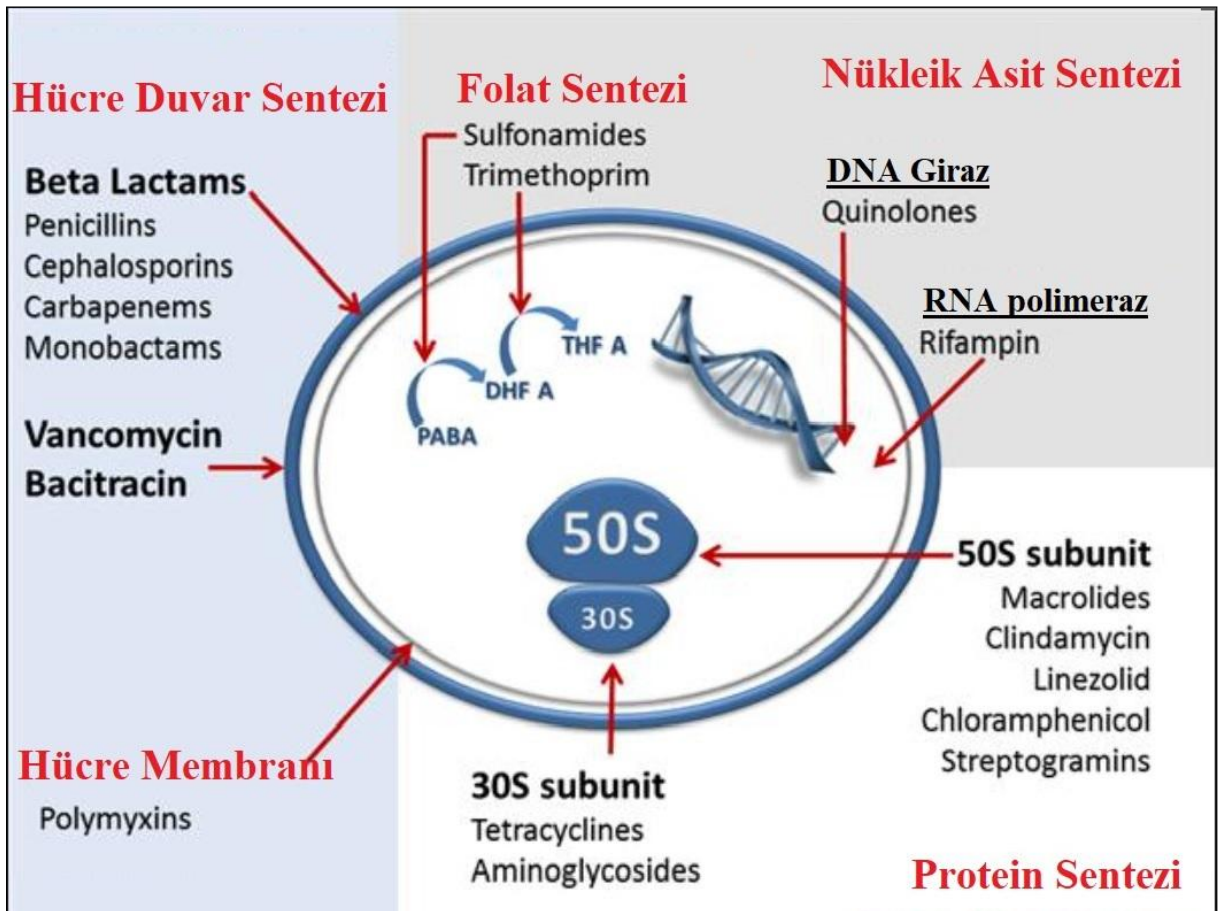
2.2. Antibiyotikler ve Etki Mekanizmaları

Antibiyotikler mikroorganizmaların büyümesini durduran ya da öldüren biyolojik kaynaklı ya da sentetik olarak elde edilen çok etkili biyoaktif maddelerdir. Antibiyotikler patojen mikroorganizmaları öldüren ama konak organizmayı etkilemeyen seçici toksik maddelerdir (Saygı ve diğ., 2012).

Antibiyotikler birden fazla özelliğe göre gruplandırılabilir. Günümüzde en yaygın bilimsel sınıflandırma etki güçlerine, etki mekanizmalarına ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırmadır. Antibiyotikler, mikroorganizmalar üzerindeki etki güçlerine göre iki farklı grupta incelenir. Bunlar bakteriyostatik etkili ve bakteriyosidal etkili olan antibiyotiklerdir. Bakteri hücrelerinin gelişmesini ya da üremesini önleyen antibiyotikler bakteriyostatik etkili olarak isimlendirilirler. İlerlemesi ve üremesi durdurulan bakteriler, vücut savunma mekanizmaları tarafından rahatlıkla yok edilirler. Tetrasiklinler, mikonazol, metronidazol, amfenikonlar, sülfonamidler ve linkozamidler bunlara örnek verilebilir.

Bakteriyosidaller, ağır zararlar vererek dolaysız olarak bakteri hücrelerini yok ederler ve bu sayede hücrenin ölmesini sağlarlar. β -Laktamlar, rifamisin, florokinolonlar, teikoplanin ve vankomisin gibi antibiyotikler bakteriyosidallere örnek verilebilir (Topal, 2015).

Antibiyotikler etki mekanizmasına göre; hücre duvar sentezini inhibe edenler, hücre zarını inhibe edenler, bakteriyel protein sentezini inhibe edenler, bakteriyel nükleik asit sentezini inhibe edenler ve folik asit metabolizmasını inhibe eden antibiyotikler olmak üzere 5 gruba ayrılırlar (Şekil 2.1) (Kapoor ve diğ., 2017).

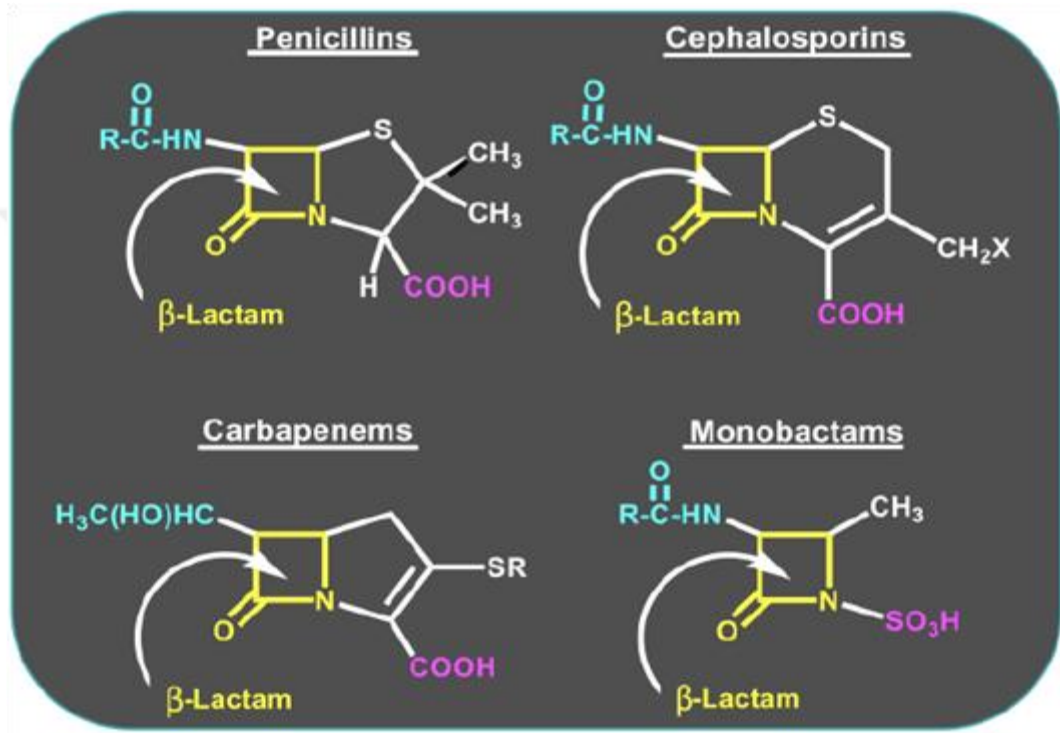


Şekil 2.1. Antibiyotiklerin Etki Mekanizması (Kapoor ve diğ., 2017 modifiye edilmiştir)

2. 3. Beta-Laktam (β -Laktam) Grubu Antibiyotikler

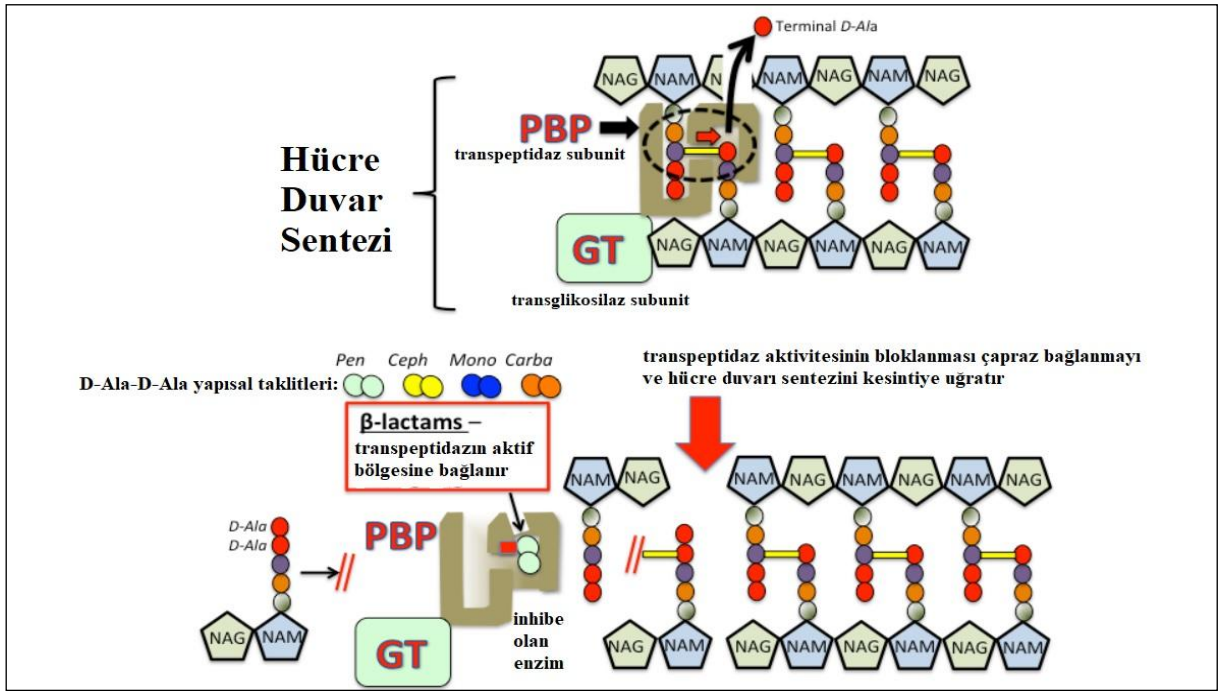
β -laktam antibiyotikler β laktam halkası taşıyan antibiyotiklerdir. β -laktam halkası üç karbon, bir azot içeren siklik amin yapısını içerir. β -laktam halkası ile ilişkili yan zincir, bir peptit bağı ile çekirdek beta-laktam yapıya bağlanan değişken bir gruptur; yan zincir değişkenliği antibakteriyel aktiviteye katkıda bulunur. β -laktam halkası içeren

antibiyotikler dört grup altında toplanırlar. Bunlar penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler. Penisilinlerde β -laktam halkaya beş üyeli thiazolidin halka kaynaşmıştır. Sefalosporinlerde altı üyeli dihidrothiazin halkası vardır. Sefalosporinlerdeki bir çift bağ içeren 5 üyeli α - halka yapısında bir metilenin yerine bir sülfürün geçmesiyle karbapenem grubu antibiyotikler oluşur. Monobaktamlarda ise sadece β -laktam halka vardır (Şekil 2.2) (Yao ve Moellering, 2007).



Şekil 2.2. Beta-laktam antibiyotikler (Yao ve Moellering, 2007)

β -laktam antibiyotikler bakteriyel hücre duvarındaki peptidoglikan sentezini inhibe eden antibiyotiklerdir. Peptidoglikanın sentezindeki son transpeptidasyon basamağı penisilin bağlayan proteinler (PBP) olarak bilinen transpeptidazlar tarafından gerçekleştirilir. β -laktam antibiyotikler, yeni sentezlenen peptidoglikan katmanının öncüsü N-asetil muramik asit (NAM) / N-asetil glukozamin (NAG) iskeleti üzerindeki terminal amino asit rezidüleri olan D-alanil-D-alanine benzer yapılara sahiptir. β -laktam antibiyotikler ve D-alanil-D-alanin arasındaki yapısal benzerlik, bunların PBP'lerin aktif bölgesine bağlanmasını kolaylaştırır. Molekülün β -laktam çekirdeği, PBP aktif bölgesinin Ser403 a.a'ne geri döndürülemez bir şekilde bağlanır. PBP'lerin geri dönüşümsüz inhibisyonu, yeni sentezlenen peptidoglikan tabakasının nihai çapraz bağlanmasını (transpeptidasyon) önleyerek hücre duvarı sentezini bozar (Şekil 2.3) (Nordmann ve diğ., 2012).



Şekil 2.3. β -laktam antibiyotiklerinin etki mekanizması

2.3.1. Karbapenemler

Karbapenemler β -laktam halkasına sahip antibiyotiklerdir. β -laktam halkasına ilaveten beş üyeli bir halkası ve yan grupları mevcuttur (Şekil 2.2). Diğer β -laktam grubu antibiyotiklerden yapısal olarak farklılığı, GSBL dahil olmak üzere β -laktamazların çoğuna karşı olağanüstü bir stabilite sağlar. 1976 yılında, *Streptomyces cattleya*'nın doğal olarak türetilmiş bir ürünü olan tienamisin, ilk keşfedilen karbapenem olmuştur. Tienamisin'in sudaki dengesizliği klinik kullanımını sınırlandırmıştır (Elshamy ve Aboshanab, 2020).

Tienamisindeki bu dengesizlik imipenem adı verilen N-formimidoil türevinin yarı sentetik üretimi ile aşılmıştır. Imipenem, böbreklerde bulunan dehidropeptidaz I enzimi tarafından parçalanır. Bu nedenle klinikte imipenem'in böbreklerde bozulmasını önleyen rekabetçi bir antagonist olan silastatin ile birlikte uygulanır. İmipenem/silastatin, meropenem, doripenem ve ertapenem gibi karbapenemler, şu anda piyasada geniş bir faaliyet yelpazesine sahip olan en son geliştirilen β -laktamlardır ve genellikle çoklu ilaç dirençli (ÇİD) patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için ayrılmıştır. İmipenem/silastatin, özellikle sefalosporin dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda, idrar yolu enfeksiyonları ve alt solunum yolu enfeksiyonları dahil olmak üzere çok çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Dehidropeptidaz I enzimine duyarlı

olmadığı için meropenem, silastatin ile uygulanmasına gerek yoktur. İmipenem ile karşılaştırıldığında, meropenem Gram-pozitif bakterilere (özellikle *Enterococcus*) karşı daha az aktif ve Gram-negatif bakterilere karşı daha aktiftir. Doripenem'in aktivite spektrumu, bazı dirençli *Pseudomonas* suşlarına karşı iyi aktivite göstermesi ile meropeneminkine benzer. Ertapenem *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* ve *Acinetobacter* türlerine karşı imipenem ve meropenemden daha düşük aktiviteye sahiptir, ancak günde bir doz kullanımına izin veren daha uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir. Doripenem, imipenem ve meropenem, yüksek riskli nozokomiyal ve toplum kökenli abdominal enfeksiyonlar için önerilmektedir (Elshamy ve Aboshanab, 2020).

2.4. Antimikrobiyal Direnç Mekanizması

Direnç, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneğidir. Direnç gelişimi ve yayılımı genellikle gereksiz ve uygunsuz antibiyotik kullanımına bağlanmakla birlikte, 1940'lı yıllarda antibiyotiklerin kullanılmadığı bazı adalarda toprak ve dışkı örneklerinde tetrasiklin ve streptomisine dirençli bakteriler bulunduğu; antibiyotik direncinin yalnızca yaygın antibiyotik kullanımı sonucu değil, bakterilerin olumsuz çevre koşullarında yaşamını sürdürmek için kullandığı savunma sürecinin bir parçası olduğu da belirtilmektedir. Ancak antibiyotiklerin yoğun şekilde kullanıma girmesi ile birlikte yıllar içinde çoğul dirençli mikroorganizmalar ortaya çıkmış ve bunlarla oluşan enfeksiyonların sağaltımında büyük sorunlar yaşanmaya başlanmıştır. Günümüzde tüm dünyada bir yandan hızla yeni ilaçlar geliştirilmekte iken, öteyandan bunlara süratle direnç kazanan mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlar bildirilmekte ve sorunun boyutları giderek büyümektedir (Yüce, 2001).

2.4.1 Doğal Direnç

Bakteriler, antibiyotiklere doğal olarak dirençli olabilir. Bu tür direnç bakterinin temel özelliğidir ve ilaç kullanımı ile ilişkisi yoktur, kalıtsal değildir. Doğal direnç, bu mikroorganizmaların tür özelliği olarak ilacın hedefi olan yapıyı taşımamalarının veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefine ulaşmamasının bir sonucudur. Örneğin; penisilin gibi, hedefi bakterinin hücre duvarı olan bir antibiyotiğin, hücre duvarı olmayan bakterilerin L-formları veya *Mycoplasma*'lar üzerinde etkili olması beklenmemektedir. Ayrıca, antibiyotiklerin etki edeceği bakteriyel hücreye girememesi sonucu da direnç

oluşmakta ve böylece etkisi de sınırlı olmaktadır. Örneğin; makrolidler sitoplazmik hedefe ulaşmak ve hücre duvarından geçmek için çok büyük olduklarından, Gram negatif bakteriler makrolidlerin aktivitesine karşı doğal olarak dirençlilerdir (Yüce, 2001; Çiftçi ve Aksoy, 2015).

2.4.2. Kazanılmış Direnç

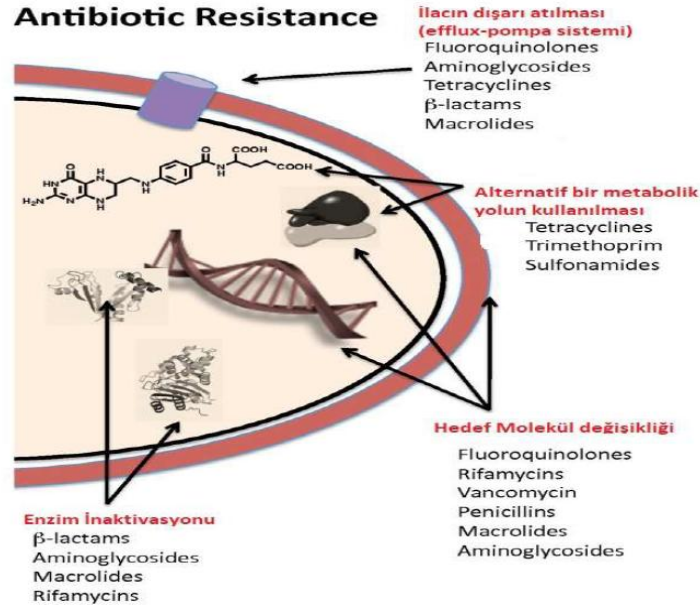
Bakteriler, yaşadıkları ekolojik nişi antimikrobiyal maddeler üreten mikroorganizmalar ile paylaşmak zorundadırlar. Hayatta kalma stratejisi olarak üretilen bu antimikrobiyal maddelere karşı bakteriler kendilerini korumak ve bu çevresel tehditlere cevap vermelidirler. Bir bakteri genetik özelliklerindeki değişimlere bağlı olarak eskiden duyarlı olduğu bir antibakteriyel ajandan etkilenmeyebilir. Bu durumda o bakteri direnç kazanmış olur. Genetik kaynaklı direnç kromozomal veya kromozom dışı elemanlara bağlı olabilir. Evrimsel bir bakış açısından bakteriler, antibiyotik "saldırısına" uyum sağlamak için iki ana genetik strateji kullanır; i) genellikle bileşiğin etki mekanizmasıyla ilişkili genlerdeki mutasyonlar ve ii) horizontal gen transferi (HGT) yolu ile direnç determinantlarını kodlayan yabancı DNA moleküllerinin kazanılması. Mutasyon ile oluşan direnç mekanizmasında duyarlı bir bakteri popülasyonunun bir kısmında antibiyotik aktivitesinin etkileyen genlerde bir mutasyon meydana gelir ve bu bakteri grubu dirençli hale gelir. Böyle bu antimikrobiyal maddenin varlığında yaşamını sürdürebilir. Dirençli bir mutant ortaya çıktığında duyarlı popülasyon kaybolur ve dirençli bakteriler baskın hale gelir. Spontan mutasyonlar bazı fiziksel ve kimyasal faktörlerle oluşabilir ve sonuçta bakteri hücresinde yapısal değişimler oluşur. Böylece hücrenin ilaca permeabilitesi azalabilir veya hücre içinde ilacın hedefinde değişiklikler olabilir. Streptomisin, aminoglikozid, eritromisin, linkomisine karşı bu tür direnç görülebilir. Spontan kromozomal mutasyon oranı 10^{-7} - 10^{-12} dir. O nedenle klinikte bu tip direnç azdır ve nadiren sorun yaratır (Yüce, 2001; Munita ve Arias, 2016).

Yabancı DNA materyalinin plazmitler, transpozonlar gibi araçlar ile horizontal gen transferi (HGT) yoluyla elde edilmesi bakteriyel evrimin en önemli faktörlerinden biridir ve sıklıkla antimikrobiyal direncin gelişmesinden sorumludur. Bakteriler yabancı genetik materyali transformasyon, konjugasyon ve transdüksiyon yolu ile elde edebilirler. Transformasyon belki de en basit HGT tipidir, ancak sadece birkaç klinik olarak önemli olan bakteri türü direnç geliştirmek için çıplak DNA'yı "doğal olarak" transformasyon yolu

ile alabilir. Hastane ortamında ise direncin ortaya çıkması genellikle hücreden hücreye teması içeren çok etkili bir gen transferi yöntemi olan konjugasyon mekanizması ile gerçekleşmektedir. Ayrıca konjugasyonun antibiyotik tedavisi altındaki insanların gastrointestinal sisteminde yüksek oranlarda ortaya çıkması muhtemeldir (Manson ve diğ., 2010; Munita ve Arias, 2016).

2.5. Direnç Mekanizmaları

Bakterilerde çok çeşitli direnç mekanizmaları tespit edilmiştir. Bir bakterinin antibiyotik dirençliliği tek bir mekanizma ile oluşabileceği gibi birden fazla mekanizma ile de meydana gelebilmektedir (Şekil 2.4). İlacın enzimatik inaktivasyonu, antimikrobiyal hedefin modifikasyonları, ilaç alımında azalma, efflux pompa sisteminin aktivasyonu, önemli metabolik yollardaki küresel değişiklikler gibi mekanizmalar bunlara örnektir.



Şekil 2.4. Bakterilerde meydana gelen kazanılmış direnç mekanizmaları

Antibiyotikleri inaktive ederek etkisiz hale getiren üç ana enzim vardır. Bunlar β -laktamazlar, aminoglikozit-modifiye edici enzimler ve kloramfenikol asetil transferazlardır. Klinik önemi olan Gram-negatif bakterilerde β -laktam antibiyotiklere karşı geliştirilen en yaygın direnç mekanizması β -laktamaz enzimlerinin üretimidir. Penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler birçok bulaşıcı hastalık için tercih edilen ilk tedavi seçenekleridir ve klinikte kullanımları çok yaygındır. Bu enzimlerin bakteri

hücresinde varlığı ve özellikleri uygun tedavinin seçiminde ve tedavide kritik bir rol oynar (Bush ve Jacoby, 2010; Kapoor ve diğ., 2017).

2.6. β -Laktamazlar

β -laktamazlar β -laktam antibiyotiklerini hidroliz eden enzimlerdir. β -laktamazlar penisilin, sefalosporin, monobaktam ve karbapenem gibi neredeyse tüm β -laktam antibiyotikleri hidrolize eden enzimlerdir. Bugüne kadar yaklaşık 300'ün üzerinde β -laktamaz bilinmektedir. β -laktamazların üretimi daha çok β -laktam antibiyotiğine direnç gösteren Gram negatif bakteriyel izolatlarda gözlenir (Bush ve Jacoby, 2010; Kapoor ve diğ., 2017).

β -laktamazlar yaygın enzimler olup iki ana sınıflandırma sistemi ile sınıflandırılırlar. Bunlar Bush-Jacoby-Medeiros (Fonksiyonel) ve Ambler (Yapısal) sınıflandırma sistemidir (Kapoor vd., 2017). Karen Bush 1989'da substratları (penisilin, oksasilin, karbenisilin, sefaloridin, genişlemiş spektrumlu sefalosporinler ve imipenem) üzerindeki etkilerine ve klavulanik asit tarafından inhibisyon duyarlılıklarına göre β -laktamazları sınıflandırmıştır. Bu sınıflandırma 1995'te Karen Bush, George Jacoby ve Antone Medeiros tarafından güncellenmiştir ve 2009'da tekrar revize edilmiştir. Bu sınıflandırma β -laktamazları üç gruba ayırmakta ve her grubun içinde alt gruplar bulunmaktadır (Saral, 2015). Moleküler yaklaşımların ilerlemesi nedeniyle, β -laktam antibiyotiklerine karşı dirençli olan klinik izolatlarda, β -laktamazları kodlayan genlerin amino asit ve nükleotit sekanslarını elde etmek giderek daha kolay hale gelmiştir. 2009'un sonlarına doğru, β -laktamazlar için veri bankalarında bulunan protein sekanslarının sayısı 890'ı aşmıştır (Bush and Jacoby, 2010). β -laktamazlar, 1980'de Ambler tarafından korunmuş ve ayırt edici amino asit motiflerine dayanarak A, B, C ve D olmak üzere dört moleküler sınıfa ayrılmıştır. Başlangıçta serin ve metallo β -laktamaz olarak (sınıf A, B) β -laktamazları iki gruba ayırmıştır. Sınıf C sefalosporinazlar Jaurin ve Grundstrom tarafından 1981'de tanımlanmıştır. 1980'lerin sonlarına doğru sınıf D oksasilin hidroliz eden enzimler sınıflandırılmaya dahil edilmiştir (Saral, 2015) (Tablo 2.2).

2.6.1. Karbapenemazlar (Karbapenem Direnci)

Karbapenemazlar, çok yönlü hidrolitik kapasiteye sahip β -laktamazlardır. Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemleri hidrolize etme yeteneğine sahiptirler. Bu β -laktamazları üreten bakteriler, karbapenemaz aktivitesinin birçok β -laktamı etkisiz

hale getirdiği ciddi enfeksiyonlara neden olabilir. Karbapenemazlar A, B ve D β -laktamaz moleküler sınıfının üyeleridir. Sınıf A ve D enzimleri serin bazlı bir hidrolitik mekanizmaya sahipken, Sınıf B enzimleri aktif bölgede çinko içeren metalo- β -laktamazlardır. A sınıfı karbapenemaz grubu, KOBİ, IMI, NMC, GES ve KPC ailelerinin üyelerini içerir. Bunlardan KPC karbapenemazlar en yaygın olanıdır ve çoğunlukla *K. pneumoniae*'deki plazmitlerde bulunur. D sınıfı karbapenemazlar, *Acinetobacter baumannii*'de sıklıkla tespit edilen OXA tipi β -laktamazlardan oluşur. Metalo- β -laktamazlar IMP, VIM, SPM, GIM ve SIM ailelerine aittir ve esas olarak *Pseudomonas aeruginosa*'da tespit edilmiştir; bununla birlikte, *Enterobacteriaceae*'de bu β -laktamaz grubunun dünya çapında artan sayıda raporu vardır (Queenan ve Bush, 2007).

Tablo 2.2. Bakteriye β -laktamazların sınıflandırılması

Bush-Jacoby grup	Ambler grup	Etkilediği substratlar	Örnek enzimler
1	C	Sefalosporin	E. coli AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Sefalosporin	GC1, CMY-37
2a	A	Penisilinler	PC-1
2b	A	Penisilinler ve öncül sefalosporin	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler ve monobaktamlar	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penisilinler	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler ve monobaktamlar	TEM-50
2c	A	Karbenisilin	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Karbenisilin ve sefepim	RTG-4
2d	D	Kloksasilin	OXA-1, OXA-10
2de	D	Geniş spektrumlu sefalosporinler	OXA-11, OXA-15
2df	D	Karbapenem	OXA-23, OXA-48
2e	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler	CepA
2f	A	Karbapenem	KPC-2, IMI-1, SME-1, GES
3a	B	Karbapenem	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1, NDM-1
3b	B	Karbapenem	CphA, Sfh-1
NI	-		

2000 yılından bu yana, dünya çapında karbapenemler dışında hemen hemen tüm sefalosporinleri hidrolize edebilen geniş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL) üreten toplum kökenli Enterobakter izolatların (*Escherichia coli*) yayıldığı bildirilmiştir. Bu nedenle, son çare antimikrobiyal ilaçları haline gelen karbapenemlerin (imipenem, ertapenem, meropenem, doripenem) klinik olarak kullanımı artmıştır. Bu antibakteriyel ajanlar, transplantasyonlar, yoğun bakım ünitelerinde yatışlar ve cerrahi operasyonlar ile bağlantılı

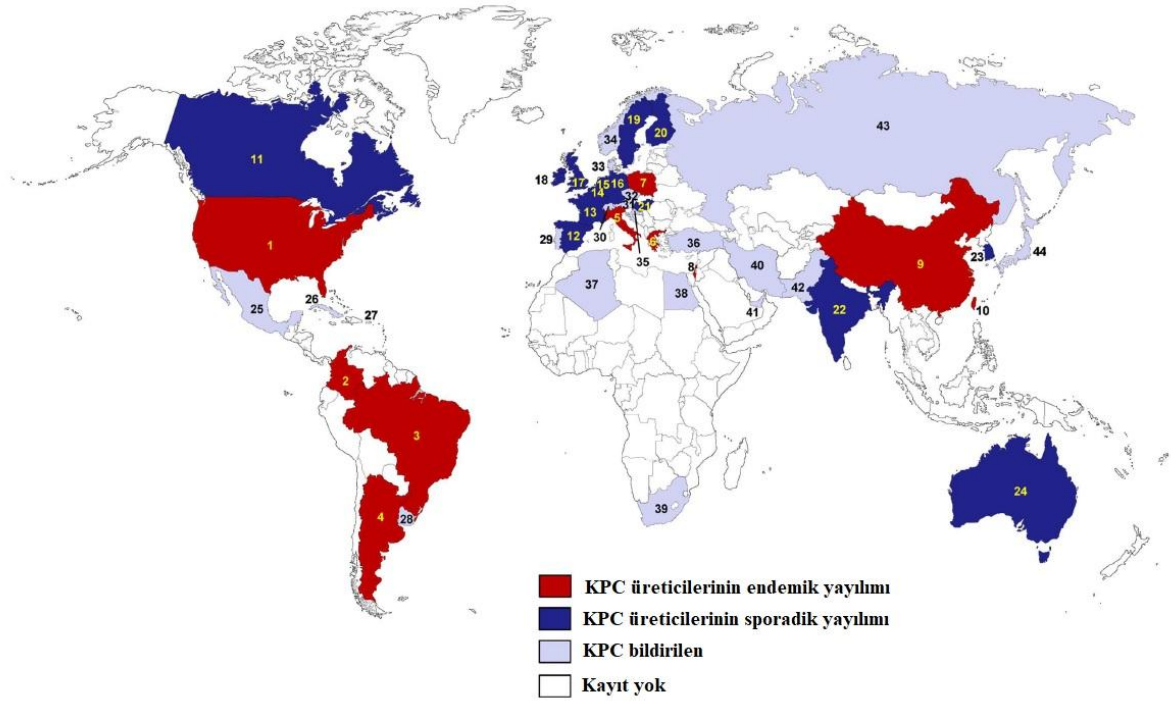
olan hayatı tehdit eden hastane veya hastane kaynaklı enfeksiyonları tedavi etmek için çok önemlidir. Karbapenem direncinin ortaya çıkması tıpta modern tekniklerin gelişimini tehlikeye atabilir veya durdurabilir. Önümüzdeki birkaç yıl içinde çok az sayıda yeni antibiyotiğin piyasaya sürüleceği açıktır, bu da karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* sorununu dünya çapında ön plana çıkarmaktadır. *Enterobacteriaceae*'de karbapenem direnci iki ana mekanizmadan kaynaklanır. Bunlardan birincisi porin ekspresyonunun niteliksel veya/ve kantitatif eksikliği ile antibiyotik alımında azalma, ikincisi ise karbapenemleri parçalayabilen enzimleri kodlayan karbapenemaz genlerinin elde edilmesi. En önemli karbapenemazlar üç tip enzim olarak kategorize edilir: Ambler sınıflandırmasına göre Sınıf A olan ve ABD'de ilk kez açıklanan ancak şimdi dünya çapında bulunan KPC tipi enzimler ve NMC/IMI, SME, tipi enzimler bu grupta yer alır. Ambler sınıflandırılmasına göre Sınıf B olan VIM, IMP ve NDM metalo- β -laktamazlar ve Sınıf D olan Akdeniz ülkeleri arasında dolaşan ve diğer coğrafi bölgelere giderek yayılan OXA-48 tipi enzimler. (Nordmann ve diğ., 2011; Nordmann ve diğ., 2012).

2.6.1.1. Sınıf A Karbapenemazlar

Serin karbapenemazlar olarak da bilinen Sınıf A karbapenemazlar fonksiyonel 2f grubu içerisinde dirler. Klinik olarak 20 yılı aşkın süre önce ilk olarak keşfedilmişlerdir. Bu karbapenemazlar *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* ve *K. pneumoniae*'de tek izolat veya küçük salgınlar olarak belirlenmişlerdir. Sınıf A karbapenemazlar içinde NmcA, Sme, IMI-1 ve SFC-1 kromozomal olarak kodlanırlar, diğer KPC, IMI-2 ve GES tipi enzimler ise plazmit aracılı karbapenemazlar olup karbapenem grubu antibiyotikleri hidroliz ederken, klavulanik asit tarafından inhibe edilirler (Queenan ve Bush, 2007).

KPC tipi karbapenemaz bu grup içerisindeki klinik olarak en yaygın enzimdir. İlk KPC enzimi 1996 yılında ABD'de tanımlanmıştır. Birkaç yıl içerisinde global bir yayılım gösteren enzim Amerika'nın birçok eyaletine, Porto Riko, Kolombiya, Yunanistan, İsrail ve Çin gibi dünyanın birçok bölgesine yayılmıştır (Şekil 2.5). KPC üreten bakterilerin sebep olduğu salgınlar Avrupa ve Güney Amerika'da da rapor edilmiştir (Nordmann ve diğ., 2011). Çoğunlukla nozokomiyal *K. pneumoniae* izolatlarından rapor edilen KPC enzimi, *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinde de rastlanılmaktadır. KPC karbapenemazlar tüm β -laktam sınıfı antibiyotikleri hidrolize edebilirler ve bu durumdan dolayı KPC üreten suşlar genellikle çoklu ilaç direncine sahiptir. Bu durum birinci basamak tedavide başarısızlığa ve çok sınırlı terapötik seçeneklere yol açar (Queenan ve

Bush, 2007; Nordman ve diğ., 2012). İlk tanımlanmalarından bugüne kadar a.a sekanslarındaki farklılıklara göre 153 KPC varyantı tanımlanmıştır (URL-1). KPC tipi enzimler birçok farklı replikasyon orjinine sahip plazmitlerde tanımlanmıştır ve çoğunlukla bu plazmitler konjugatiftir. Bu durum direncin hızlı yayılımını sağlamakta ve buda klinik olarak çok ciddi sorunlara yol açmaktadır (Lee ve diğ., 2016).



Şekil 2.5. KPC üreten *Klebsiella pneumoniae*'nin epidemiyolojik özellikleri (Lee ve diğ., 2016). (1) ABD; (2) Kolombiya; (3) Brezilya; (4) Arjantin; (5) İtalya; (6) Yunanistan; (7) Polonya; (8) İsrail; (9) Çin; (10) Tayvan; (11) Kanada; (12) İspanya; (13) Fransa; (14) Belçika; (15) Hollanda; (16) Almanya; (17) İngiltere; (18) İrlanda; (19) İsveç; (20) Finlandiya; (21) Macaristan; (22) Hindistan; (23) Güney Kore; (24) Avustralya; (25) Meksika; (26) Küba; (27) Porto Riko; (28) Uruguay; (29) Portekiz; (30) İsviçre; (31) Avusturya; (32) Çek Cumhuriyeti; (33) Danimarka; (34) Norveç; (35) Hırvatistan; (36) Türkiye; (37) Cezayir; (38) Mısır; (39) Güney Afrika; (40) İran; (41) Birleşik Arap Emirlikleri; (42) Pakistan; (43) Rusya; (44) Japonya.

GES tipi aile enzimlerinin ilk temsilcisi 2000 yılında rapor edilmiştir ve bu aile şimdi 57 varyantı içermektedir. Tüm GES varyantları geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize etme yeteneğine sahiptir. Ancak bazı varyantlarda bulunan amino asitlerde (104 ve 170 pozisyonları) meydana gelen mutasyon bu GES varyantlarını karbapenemlere karşı aktivite göstermelerine sebep olmuştur (Poirel ve diğ., 2007, URL-1). Bu durum GES-2, -4, -5, -6, -14, -15, -16, -18, -20, -21, 24, -39, -47, -48, -49, -50, -51, -53 ve -54'üncü aleller için geçerlidir (URL-1).

KPC tipi karbapenemazların yanı sıra GES-2, GES-4, GES-5, GES-6, GES-11, GES-14, GES-18, SFC-1, SHV-38, NMC-A, SME-1 ve IMI tipi gibi diğer sınıfı A karbapenemaz enzimleri *K. pneumoniae*'de nadiren bulunmuştur (Lee ve diğ., 2016).

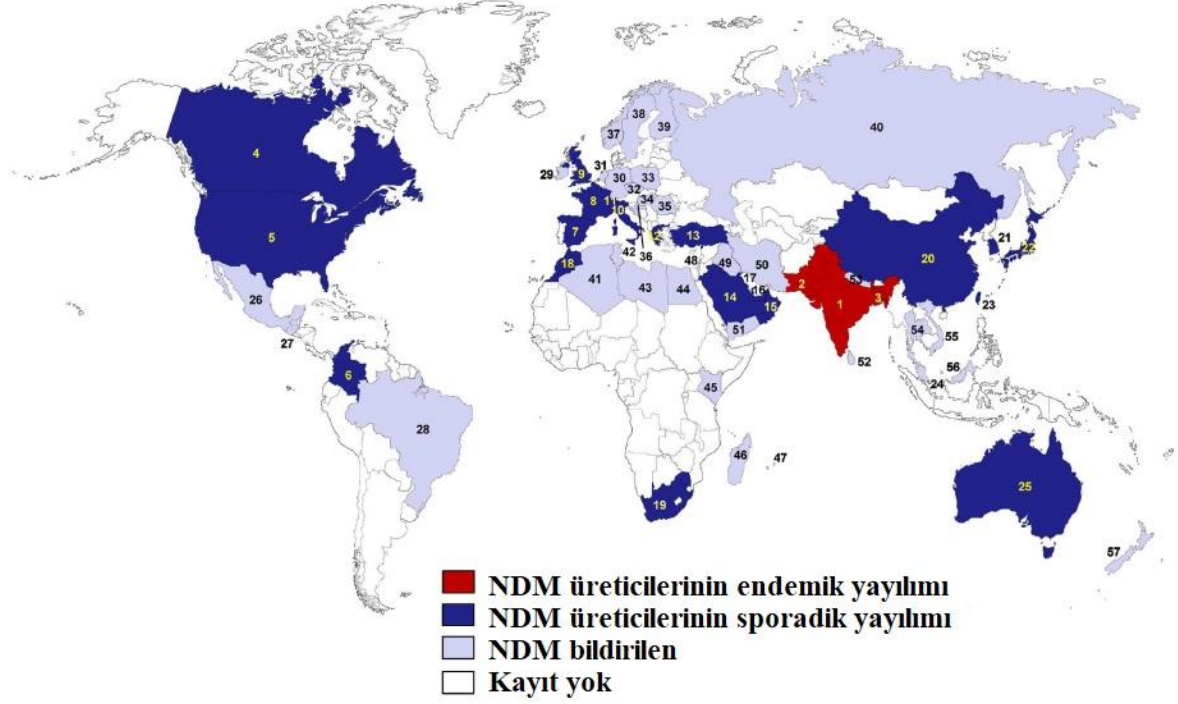
2.6.1.2. Sınıf B Karbapenemazlar (Metallo- β -Laktamazlar- MBL)

Sınıf B karbapenemazlar, katalitik aktiviteleri için çinko veya başka bir ağır metal gerektiren metallo- β -laktamazlardır. Sınıf B β -laktamazlar geniş bir substrat spektrumuna sahiptir ve monobaktamlar hariç karbapenemler dahil hemen hemen tüm β -laktam antibiyotiklerinin hidrolizini katalize edebilirler. Sınıfı B karbapenemazlar çoğunlukla *Enterobacteriaceae*'de tanımlanmıştır. Bu grup VIM ve IMP tipi β -laktamazları ve son yıllarda gelişmekte olan NDM grubunu içerir. Bunlar arasında NDM (New Delhi metallo- β -laktamaz), klinik olarak en önemli karbapenemazlardan biridir (Lee ve diğ., 2016). NDM-1 ilk olarak Yeni Delhi'de bir hastanede kaldıktan sonra, İsveç'te hastaneye kaldırılan Hint kökenli İsveçli bir hastadan izole edilen *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarından izole edilmiştir (Nordmann ve Poirel, 2014).

NDM-1, diğer MBL'lerle çok az benzerlik gösterir; en benzerleri VIM-1/ VIM-2'dir ve sadece % 32.4 amino asit benzerliğine sahiptir. NDM-1'in ilk tanımlanmasından bu yana, bu enzimin 48 varyantı vardır ve bunların çoğu Asya kökenlidir. *bla*_{NDM} üreten *Enterobacteriaceae*'lerin ana tanımlanmış rezervuarı Hint alt kıtasıdır (Pakistan, Hindistan ve Sri Lanka) (Nordmann ve Poirel, 2014; URL-1).

İlk tanımlanmasından (2008) bu yana NDM üreten *K. pneumoniae* birçok ülkede hızla yayılmıştır. NDM üreticisi *K. pneumoniae*'ler Asya, Afrika, Avustralya, Amerika ve Avrupa'daki birçok ülke de dahil olmak üzere neredeyse tüm dünyada rapor edilmiştir (Şekil 2.6). NDM üreticileri şu anda İngiltere ve Fransa gibi Avrupa ülkelerindeki karbapenemaz üreticileri listesinin başında yer almaktadır (Nordmann ve diğ., 2011; Berrazeg ve diğ., 2014; Lee ve diğ., 2016). Bunun yanısıra dünya çapında gerçekleştirilen bir çok çalışmada örneğin Brezilya'da NDM-1/KPC-2 birlikteliği (Pereira ve diğ., 2015), Türkiye, İsviçre, Birleşik Arap Emirlikleri, Avustralya ve Fas'daki NDM-1/OXA-48 birlikteliği (Barguigua ve diğ., 2013; Seiffert ve diğ., 2014; Dash ve diğ., 2014; Kılıç ve Baysallar, 2015; Sidjabat ve diğ., 2015) gibi NDM ve diğer karbapenemazların *K. pneumoniae*'de bir arada bulunduğu rapor edilmiştir. NDM direncinin bu kadar hızlı bir şekilde yayılmasının nedeni; *K. pneumoniae* ve *E. coli*'nin sahip olduğu farklı plazmitler

arasında korunmuş NDM-1 kodlama bölgelerinin karşılaştırmalı analizleri sonucunda belirlendi. Bu analizler sonucunda NDM-1 kodlama bölgesini çevreleyen yer değiştirebilen elementlerin (insersiyon sekansları) ve ters çevrilmiş tekrar dizilerinin NDM direncinin hızlı yayılmasına yardımcı olduğunu öne sürüldü (Chen ve diğ., 2012).



Şekil 2.6. NDM üreten *K. pneumoniae*'nin epidemiyolojik özellikleri (Lee ve diğ., 2016). (1) Hindistan; (2) Pakistan; (3) Bangladeş; (4) Kanada; (5) ABD; (6) Kolombiya; (7) İspanya; (8) Fransa; (9) Birleşik Krallık; (10) İtalya; (11) İsviçre; (12) Yunanistan; (13) Türkiye; (14) SuudiArabistan; (15) Umman; (16) Birleşik Arap Emirlikleri; (17) Kuveyt; (18) Fas; (19) Güney Afrika; (20) Çin; (21) Güney Kore; (22) Japonya; (23) Tayvan; (24) Singapur; (25) Avustralya; (26) Meksika; (27) Guatemala; (28) Brezilya; (29) İrlanda; (30)Almanya; (31) Hollanda; (32) Çek Cumhuriyeti; (33) Polonya; (34) Macaristan; (35) Romanya; (36) Hırvatistan; (37) Norveç; (38) İsveç; (39) Finlandiya; (40) Rusya; (41) Cezayir; (42) Tunus; (43) Libya; (44) Mısır; (45) Kenya; (46) Madagaskar; (47) Mauritius; (48) İsrail; (49) Irak; (50) İran; (51) Yemen; (52) Sri Lanka; (53) Nepal; (54) Tayland; (55) Vietnam; (56) Malezya, (57) Yeni Zelanda.

IMP tipi β -laktamazlar tanımlanmış ilk edinilmiş MBL'lerdir ve *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* gibi bir dizi klinik olarak önemli Gram negatif basillerde tespit edilmiştir. *Enterobacteriaceae* arasında, IMP-1 1991 yılında Japonya'da bir *S. marcescens* izolatında bulunmuştur (Ito ve diğ., 1995). Şimdiye kadar 98 IMP varyantı tespit edilmiş ve IMP tipi karbapenemaz üreticileri dünya çapında yayılım göstermiştir. Bununla birlikte, dünya çapında IMP üreten izolatların frekansı, KPC, VIM, NDM veya OXA-48 üreticilerinden çok daha azdır. IMP tipi enzimlerin geniş yayılımı çoğunlukla Japonya, Tayvan ve Doğu Çin'de gösterildi, ancak birçok ülkeden tek raporlar var ve bu enzimleri üreten izolatlar bazen nozokomiyal salgınlara neden olmuştur (Nordmann ve Poirel, 2014; URL-1). Başka bir MBL tipi ise VIM tipi (Verona integron kodlanmış

MBL'ler) β -laktamazlardır. VIM-1 ilk olarak 1997'de İtalya'da, daha sonra VIM-2, Fransa'da *P. aeruginosa* izolatlarında bildirildi. Şu anda, VIM ailesi, esas olarak *P. aeruginosa*'da değil, aynı zamanda enterobakteriyel izolatlarda da tanımlanan 83 varyantı içermektedir. VIM-2 aslında dünya çapında en çok bildirilen MBL'dir. Güney Avrupa (Yunanistan, İspanya ve İtalya) ve Güneydoğu Asya'da (Güney Kore ve Tayvan) endemik yayılım gösterirken, Afrika'da ve bazı Avrupa ülkelerinde salgınlara neden olmuştur. Bu salgınlar esas olarak VIM üreten *P. aeruginosa*'yı ve nadiren enterobakteriyel türleri içerir. Genler ayrıca Sınıf 1 integronlar içinde bulunan gen kasetlerinde de belirlenmiştir (Zhao ve Hu, 2011; Nordmann ve Poirel, 2014; URL-1). Diğer kazanılmış MBL'lar SPM-1, GIM-1, SIM-1, DIM-1 ve AIM-1'dir (Nordmann ve diğ., 2012).

NDM tipi karbapenemazların yanı sıra IMP ve VIM grupları da dünya çapında *K. pneumoniae* izolatlarında tespit edilmiştir, ancak GIM-1, KHM-1 ve SPM-1 gibi diğer karbapenemazlar tespit edilmemiştir (Lee ve diğ., 2016).

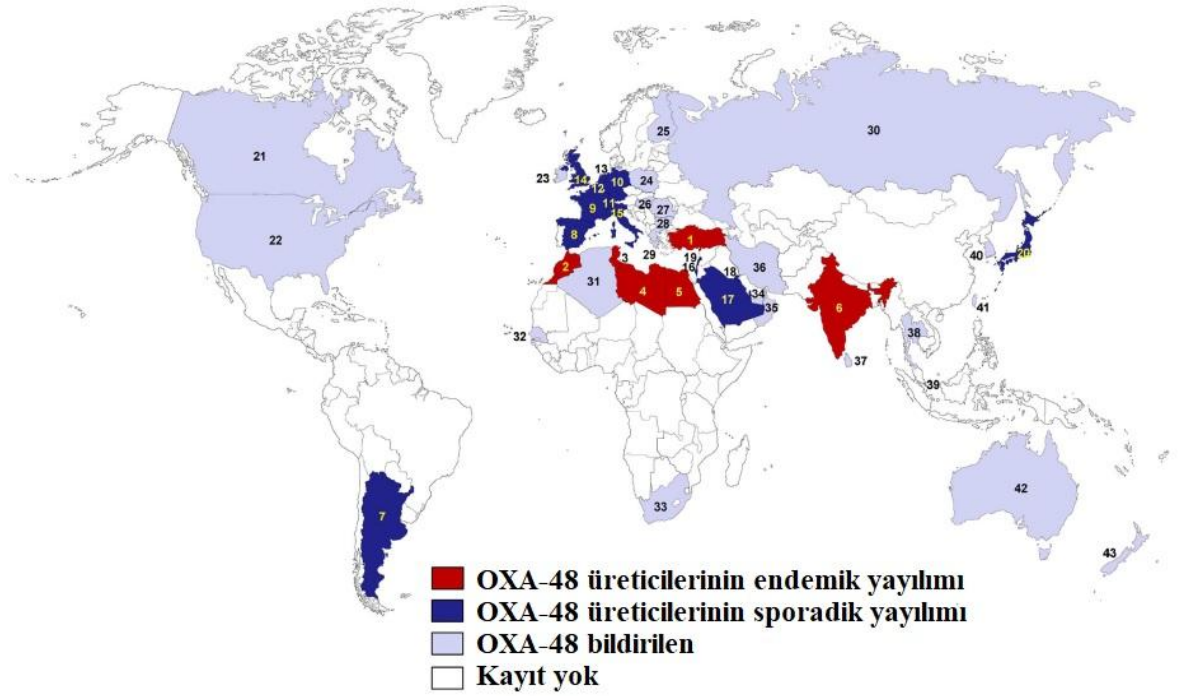
2.6.1.3. Sınıf D Karbapenemazlar (OXA- β -Laktamazlar)

OXA (“oksasilin hidroliz eden”) β -laktamazlar, 1970'lerin sonlarında ve 1980'lerin başında en yaygın plazmit kodlu β -laktamaz ailelerinden birini temsil ediyordu. Moleküler Sınıf D OXA β -laktamazlar, diğer serin β -laktamazlardan ayrı bir moleküler sınıfa yerleştirildiklerinde, esas olarak *Enterobacteriaceae* ve *P. aeruginosa*'da tanımlanmış ve fonksiyonel olarak oksasilin ve kloksasilini hidrolize edebilen penisilinler olarak tanımlanmıştır (Queenan ve Bush, 2007). Bugüne kadar 1184 OXA varyantı tespit edilmiştir ve Karbapenem hidroliz eden Sınıf D β -laktamazlar (KHDL) bunlardan bazılarıdır (URL-1).

Amino asit sekans benzerliklerine dayanarak, KHDL'ler 12 alt gruba ayrılırlar. OXA-23, OXA-24/40, OXA-48, OXA-51, OXA 58, OXA-134a, OXA-143, OXA-211, OXA-213, OXA-214, OXA-229 ve OXA-235 alt gruplarına ait enzimler, bakteriyel patojenlerde geniş yayılımları nedeniyle büyük klinik öneme sahiptir. Bu karbapenemazların çoğu, sıklıkla *Acinetobacter baumannii*'de olmak üzere çeşitli *Acinetobacter* izolatlarında tanımlanırken, OXA-48 ve türevleri *Enterobacteriaceae*'de tanımlanmıştır (Antunes ve diğ., 2014; Nordmann ve Poirel, 2014; Lee ve diğ., 2016).

Tanımlanan ilk OXA-48 üreticisi, Türkiye'de 2003 yılında bir *K. pneumoniae* izolatında bildirilmiştir. O zamandan beri, OXA-48 üreticileri Türkiye'de sıklıkla nozokomiyal

salgınların nedenleri olarak kapsamlı bir şekilde rapor edildi. OXA-48 üreten izolatlar artık Avrupa ülkelerinde de yaygın bir şekilde yayılmıştır ve Türkiye dışındaki ana rezervuarlardan birinin Kuzey Afrika ülkeleridir. Fransa, Almanya, İsviçre, İspanya, Hollanda ve İngiltere de dahil olmak üzere birçok ülkede OXA-48 üreten *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *E. cloacae*'yi içeren hastane salgınları bildirilmiştir (Şekil 2.7) (Lee ve diğ., 2016).



Şekil 2.7. OXA-48 benzeri karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*'nin epidemiyolojik özellikleri (Lee ve diğ., 2016). (1) Türkiye; (2) Fas; (3) Tunus; (4) Libya; (5) Mısır; (6) Hindistan; (7) Arjantin; (8) İspanya; (9) Fransa; (10) Almanya; (11) İsviçre; (12) Belçika; (13) Hollanda; (14) İngiltere; (15) İtalya; (16) İsrail; (17) SuudiArabistan; (18) Kuveyt; (19) Lübnan; (20) Japonya; (21) Kanada; (22) ABD; (23) İrlanda; (24) Polonya; (25) Finlandiya; (26) Macaristan; (27) Romanya; (28) Bulgaristan; (29) Yunanistan; (30) Rusya; (31) Cezayir; (32) Senegal; (33) GüneyAfrika; (34) Birleşik Arap Emirlikleri; (35) Umman; (36) İran; (37) SriLanka; (38) Tayland; (39) Singapur; (40) GüneyKore; (41) Tayvan; (42) Avustralya; (43) Yeni Zelanda.

*bla*_{OXA-48} geninin çeşitli enterobakteriyel türler arasında başarılı bir şekilde yayılmasını sağlayan ana faktörlerden biri, *bla*_{OXA-48}'in bulunduğu plazmitin yüksek transfer verimliliğidir. Yaklaşık 62 kb'lik tek bir plazmit, çeşitli enterobakteriyel türlerde yayılan *bla*_{OXA-48} geninin ana kaynağıdır. Bu konjugasyon özelliğine sahip plazmit, başka bir antibiyotik direnç geni olmayan bir IncL/M replikasyon orjinine sahiptir. *bla*_{OXA-48} geni fonksiyonel bir transpozon oluşturmak için iki IS1999 elemanı arasındadır. Son zamanlarda, Hindistan'dan veya bağlantısı olan hastalardan izole edilen enterobakteriyel izolatlarda OXA-48 ile aynı hidrolitik özellikleri paylaşan bir nokta-mutant türevi

tanımlanmıştır. *bla*_{OXA-181} geni, *bla*_{OXA-48}'inkinden tamamen farklı olarak konjugatif özelliği olmayan, yaklaşık 7,6 kb büyüklüğünde bir ColE2 tipi plazmit üzerinde tanımlanmıştır (Poirel ve diğ., 2012a).

2.6.2. *K. pneumoniae*'de Karbapenemaz Direncine Bakış

Karbapenem dirençli (KD) Gram-negatif patojenlerin ortaya çıkması, dünya çapında halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Özellikle, karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* (KDKp) prevalansının artması önemli bir endişe kaynağıdır.

Karbapenemler (imipenem, meropenem, biapenem, ertapenem ve doripenem), *K. pneumoniae* ve *E. coli* gibi çok dirençli *Enterobacteriaceae*'lerin neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerdir. Bununla birlikte, son 10 yılda, Karbapenem Dirençli *Enterobacteriaceae* (KDE) dünya çapında giderek daha fazla rapor edilmiştir. Özellikle *K. pneumoniae*, karbapenemler dahil çoğu β -laktam antibiyotikleri parçalayabilen ve böylece bu ilaçlara direnç kazandıran enzimler olan karbapenemazlara sahiptir. KDKp'nin neden olduğu sepsisli hastalarda yüksek mortalite oranları bildirilmiştir. (Jeon ve diğ., 2015; Lee ve diğ., 2016).

Sınıf A karbapenemazlardan plazmit aracılığı ile kodlanan KPC, GES, IMI-2 ve kromozomal kodlanan IMI-1, NMC-A, SME enzimlerinin varlığı *K. pneumoniae*'de incelendiğinde, KPC tip karbapenemazlar en sık görülmektedir. *K. pneumoniae* bakterisinde ilk KPC varlığı 1996 yılında Amerikada tespit edilmiştir. KPC üreten *K. pneumoniae*'lerin coğrafik olarak bulunması değişiklik gösterir. Bazı coğrafik bölge ve ülkelerden izole edilen *K. pneumoniae*'lerde görülen KPC direnci endemik iken, bazılarında tektük rastlanılmıştır. ABD, Çin, İtalya, Polonya, Yunanistan, İsrail, Brezilya, Arjantin, Kolombiya ve Tayvan'da izole edilen *K. pneumoniae*'lerde KPC enzimi endemik yayılım gösterirken, İspanya, Fransa, Almanya, Hollanda, İngiltere, İrlanda, Belçika, İsveç ve Finlandiya dahil birçok Avrupa ülkesinde ve Hindistan, Güney Kore ve Avustralya'nın dahil olduğu Asya-Pasifik bölgesindeki bazı ülkelerde KPC üreten *K. pneumoniae*'ler sporadik yayılım gözlemlenmiştir (Lee ve diğ., 2016). Ülkemizde ise KPC üreten *K. pneumoniae* izolatları klinik örneklerden tek tük bildirilmeye başlamıştır. Tekeli ve diğ. (2019) yaptıkları çalışmada 10 klinik *K. pneumoniae* izolatında NDM ve KPC geni varlığını göstermişlerdir.

K. pneumoniae'deki *bla*_{KPC} geni IncF, IncI2, IncX, IncA/C, IncR ve ColE1 gibi replikasyon orjinine sahip birçok plazmitte rapor edilmiştir. IncF tipi plazmit bunlar arasında en baskın olanıdır. IncF tipi plazmitler sıklıkla aminoglikozit, tetrasiklin, kinolon, trimetoprim ve sülfonamid gibi birkaç diğer antibiyotiklere direnç sağlayan genleride ek olarak içerir (Pitout ve diğ., 2015).

Sınıf B karbapenemazlar çoğunlukla VIM, IMP ve yeni yeni ortaya çıkan NDM grupları ile *Enterobacteriaceae* familyasında tanımlanmıştır. Bunlar arasında NDM grubu klinik olarak önemli olan bir gruptur. NDM-1 ilk olarak 2008 yılında *K. pneumoniae* ve *E.coli* suşlarında Hindistanlı bir hastadan İsveç'te izole edilmiştir ve izole edildiğinden beri dünyada yayılmaktadır. Bugüne kadar birçok varyantı tanımlanan NDM'lerin genellikle hepsi Asya kökenlidir. 2008 den beri NDM üreten *K. pneumoniae*'ler dünya çapında yayılım göstermiştir ve Hindistan kıta parçasında (Hindistan, Pakistan ve Bangladeş'i içeren) endemik olduğu düşünülür. Tek tük yayılımı ise dünyanın birçok ülkesinde gösterilmiştir (Lee ve diğ., 2016). Ülkemizde ise hastanelerden ve hastalardan izole edilen NDM dirençli *K. pneumoniae* izolatu birçok çalışmada tespit edilmiştir (Poirel ve diğ., 2012b; Alp ve diğ., 2013; Poirel ve diğ., 2014; Kılıç ve Baysallar, 2015; Gökmen ve diğ., 2016; Karabay ve diğ., 2016; Çelikkilek ve diğ., 2017; Güdücüoğlu ve diğ., 2018; Erdem ve diğ., 2020). Bu durum NDM direnç geninin ülkemizde de yaygın olduğunu göstermektedir.

K. pneumoniae'deki *bla*_{NDM} genlerinin IncA/C, IncF, IncR, IncH, IncN, IncL/M ve IncX replikasyon orjinlerine sahip plazmitlerde bulunduğu rapor edilmiştir. *bla*_{NDM} genlerinin yayılmasından sorumlu baskın plazmit IncA/C ve çeşitli antibiyotik direnç genleride (*rmtA* ve *rmtC*: aminoglikozid direnci, CMY-tip β -laktamaz: geniş spektrumlu sefalosporin direnci, *qnrA*: kinolon direnci) taşıdığı tespit edilmiştir (Pitout ve diğ., 2015).

Sınıf D β -laktamazlar arasında OXA-23, OXA-48, OXA-51 ve OXA-58 *Klebsiella pneumoniae*'de rapor edilmiştir. OXA-48 en etkili Sınıf D karbapenemazdır. OXA-48 ilk olarak *K. pneumoniae*'de 2003 yılında Türkiye'de izole edilmiştir ve bugüne kadar yaklaşık 10'dan fazla varyantı tanımlanmıştır. OXA-48 üreten *K. pneumoniae*'lerin ana rezervi Türkiye olarak düşünülür (Evans ve Amyes, 2014; Nordmann ve Poirel, 2014).

2.7. Hipervirülant *K. pneumoniae* (hvKP)

Tarihsel olarak, *K. pneumoniae*, öncelikle bağışıklığı baskılanmış kişilerde ciddi enfeksiyonlara neden olmuştur. Diyabet, maligniteler gibi hastalıklardan müzdarip bağışıklığı baskılanmış bireylerde *K. pneumoniae*, pnömoni, bakteriyemi veya menejit gibi ciddi enfeksiyonlara neden olur. Bunun yanında *K. pneumoniae* suşlarının ilaç direnci taşınması tedavi edilmelerini daha zor hale getirir. Çoklu ilaca dirençli olup olmadıklarına bakılmaksızın normalde sağlıklı bireylerde (idrar yolu enfeksiyonları hariç) nadiren hastalığa neden olan *K. pneumoniae* suşları “klasik suşlar” (kKP) olarak değerlendirilir (Paczosa ve Meccas, 2016).

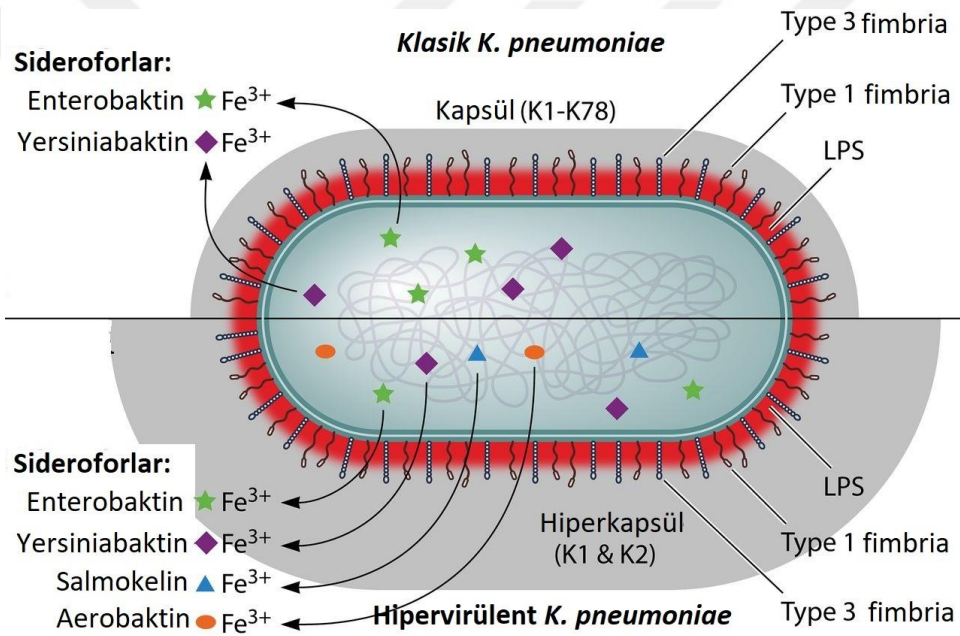
Fakat 1980’lerde sağlıklı bir bireyde endoftalmi ile birlikte karaciğer absesine neden olan benzersiz bir *K. pneumoniae* vakası ilk kez Tayvan’da rapor edildi ve neden olan *K. pneumoniae* bakterisi hipervirulent (hvKP) olarak tanımlandı (Liu ve diğ., 1986). Tayvan’dan gelen raporlar 1980’lerin ortalarında ve 1990’larda birden fazla bölgede ortaya çıkan çok sayıda vaka olduğunu bildirdi. Bu vakalar arasında safra yolu hastalığı olmaksızın piyojenik karaciğer absesi, hepatik olmayan bölgelerde apseler, pnömoni, endoftalmit, menenjit ve nekrotizan fasiit yer almaktadır. Bu patotipi kKP’den ayırt etmek için hvKP tanımı kullanılmıştır ve dünya çapında artan sayıda bu tür vakalar rapor edilmiştir (Russo ve diğ., 2018).

hvKP’nın görüldüğü 1980’lerden beri, sağlıklı bireylerde ciddi enfeksiyonlara neden olabilen *K. pneumoniae* suşları ilgi odağı haline geldi. Bu suşlar, hem sağlıklı hem de bağışıklığı baskılanmış popülasyonları enfekte etme yetenekleri ve bu enfeksiyonların invaziv olma eğiliminin artması nedeniyle kKP suşlarına kıyasla hvKP olarak kabul edildiler. Hipervirulent suşların ortaya çıkması ve yayılması, enfeksiyonlara duyarlı kişilerin sayısını, sağlıklı ve bağışıklığı yeterli olanları da içerecek şekilde genişletmiştir (Lan ve diğ., 2020).

2.8. *K. pneumoniae*’de Virülans Faktörleri

Virülans, bir mikroorganizma grubu veya türü içerisinde hastalık oluşturma yeteneğinin derecesini tanımlamaktadır. Mikroorganizmanın hastalık başlatabilme yeteneği ve ortaya çıkan hastalığın şiddeti olarak iki özelliği kapsamaktadır. (Schachter ve diğ., 1993). *K. pneumoniae*’nin klinikde sağlık bakımıyla ilişkili önemli bir patojen olması, hastalık

oluşturma yeteneğinde yer alan faktörlerin araştırılmasını sağlamıştır. *K. pneumoniae*'nin patojenitesine, konakçının doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinden kaçmasına izin veren birkaç virülans faktörü aracılık eder (Clegg ve Sebghati, 2001; Cruz-Cordova ve diğ., 2014). Bugüne kadar, *K. pneumoniae*'de iyi karakterize edilmiş dört ana virülans faktörü sınıfı vardır. Bu virülans faktörleri; kapsül (hvKP suşlarında hiperkapsül üretimi dahil), lipopolisakarit (LPS); sideroforlar ve pili olarak da bilinen fimbriyalardır (Şekil 2.8). Son zamanlarda *K. pneumoniae* virülansı için önemli olan birkaç başka faktör tanımlanmıştır. Bu virülans faktörleri, OMP'leri, porinleri, akış pompalarını, demir taşıma sistemlerini ve allantoin metabolizmasında yer alan genleri içerir (Paczosa ve Meccas, 2016).

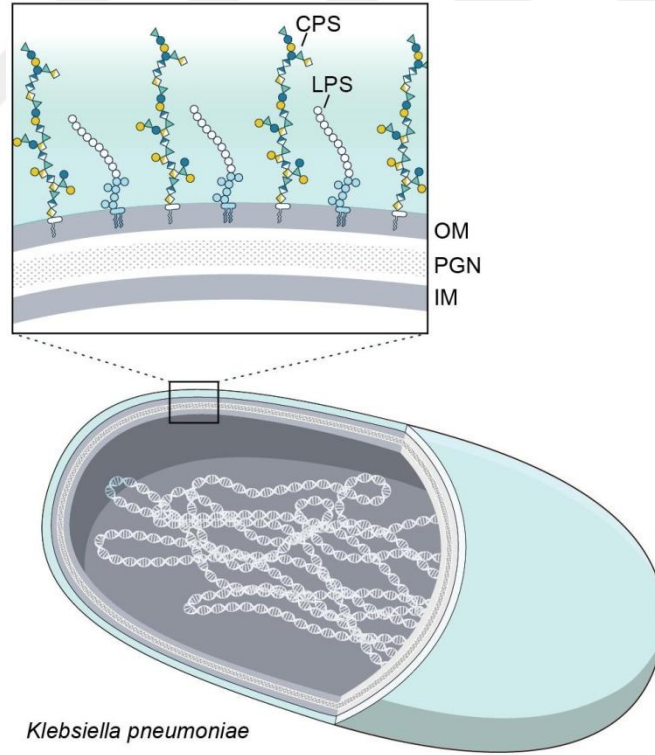


Şekil 2.8. *K. pneumoniae* suşlarında virülans faktörleri (Paczosa ve Meccas, 2016).

2.8.1. Kapsül

Hücreyi kaplayan bir polisakarit matrisi olan kapsül, *K. pneumoniae* virülansı için gereklidir ve muhtemelen *K. pneumoniae*'nin en kapsamlı şekilde incelenen virülans faktörüdür. Gerçekleştirilen fare deneyleri kapsülsüz *K. pneumoniae* suşlarının, akciğerlerdeki bakteri yükünün azalması, fare ölüm oranlarının daha düşük olması ve bakterilerin sistemik olarak yayılamaması nedeniyle kapsüllü suşlardan önemli ölçüde daha az virülans olduklarını göstermiştir (Paczosa ve Meccas, 2016).

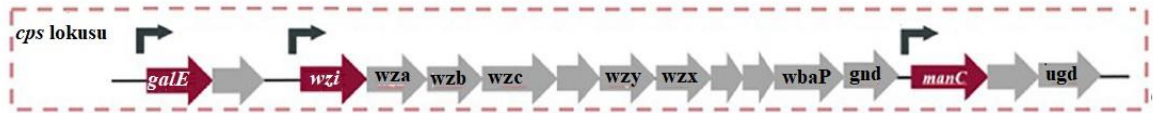
K. pneumoniae'lerin patogenezi için çok önemli olan ve hücre içinde fagositozdan kaçınmak için ürettikleri kapsül polisakkarit yapıdan oluşur (Şekil 2.9). Bu polisakkarit kapsül bakteri yüzeyinde koruyucu bir tabakası oluşturur ve tekrar eden şeker birimlerinden oluşur. Bu yapı dört ile altı şekerden ve sıklıkla üronik asitlerden (negatif yüklü bileşenler olarak) oluşan tekrarlayan alt birimlerdir. Bu kapsüller polisakkaritler K-antijeni olarak da adlandırılırlar. Kapsülün yapısında bulunan polisakkarit çeşitliliğine ve yapılarına bağlı olarak *K. pneumoniae*'nin farklı kapsül serotipleri vardır. Bugüne kadar *K. pneumoniae*'de tanımlanmış 79 kapsül serotipi bulunur. hvKP'de sekiz tip, K1, K2, K5, K16, K20, K54, K57 ve KN1 tanımlanmıştır. Bu kapsül tiplerinden K1 ve K2 en yaygın olanıdır (Podschun ve Ullmann, 1998; Pan ve diğ., 2015; Opoku-Temeng ve diğ., 2019; Zhu ve diğ., 2021). Özellikle K1, K2, K54, K57, K20 ve K5, sürekli olarak toplum kaynaklı invaziv piyojenik karaciğer absesi, septisemi ve pnömoni ile ilişkilidir. Ayrıca, K1, K2, K20, K54 ve K57 kapsül tipleri farelerde gerçekleştirilen *in-vivo* deneylerde ağırlıklı olarak ciddi enfeksiyonlara neden olur (Wei ve diğ., 2016).



Şekil 2.9. *K. pneumoniae*'de kapsül polisakkarit ve lipopolisakkarit yapı. CPS: kapsül polisakkarit, LPS: lipopolisakkarit, OM: dış membran, PG: peptidoglukan tabaka, IM: iç membran.

Kapsül polisakkarit (CPS) biyosentezini içeren genler, kromozom üzerindeki *cps* lokusu içerisinde yer alan çoklu genler ile gerçekleştirilir. *cps* gen lokusu (*galF*'den *ugd*'ye),

büyük ölçüde sırasıyla *galF*, *wzi* ve *manC* genlerinin yukarısında bulunan üç promotor tarafından yönlendirilen 20'den fazla geni barındırır (Şekil 2.10). CPS'nin bakteri yüzeyine translokasyonu ve montajı, *cps* lokusunun 5' ucunda korunmuş genler *galF*, *orf2*, *wzi*, *wza*, *wzb* ve *wzc* tarafından kodlanan proteinler ile düzenlenir. Şeker biyosentezinde yer alan genler *rmlA*, *rmlB*, *rmlC* ve *rmlD* (dTDP-L-ramnoz sentezinde yer alan) ve *manB* ve *manC* (GDP-D-mannoz sentezinde yer alan) *cps* gen lokusunun 3' ucunda bulunan *gnd* ve *ugd* olarak bilinen korunmuş genlerle çevrilidir. *wzc* ve *gnd* arasındaki merkezi bölge, CPS tekrar birimlerinin sentezinde yer alan genleri ve bakteri yüzeyinde kapsül alt birimlerinin birleştirilmesi için önemli olan kapsül polimeraz *wzy*'yi içerir. *K. pneumoniae* kapsül tiplerindeki farklılıkların altında nükleotit sekansı ve gen sayısındaki varyasyon yatmaktadır (Opoku-Temeng ve diğ., 2019; Zhu ve diğ., 2021).



Şekil 2.10. *cps* gen lokusu

Yüksek kapsül üretkenliği *cps* gen lokusunda bulunan genlere ilave olarak bir dizi virülans genine atfedilir. Mukoid fenotip düzenleyicisi A ve A2 proteinini kodlayan *rmpA* ve *rmpA2* bu virülans genlere örnektir. Hem *rmpA* hem de *rmpA2* plazmit veya kromozom tarafından kodlanabilmektedir. Kromozomal *rmpA* (k-*rmpA*) integratif ve konjugatif bir elementte (ICEKp1) yer almaktadır. Plazmit aracılı *rmpA* (p-*rmpA*) *K. pneumoniae* suşlarında en yaygın olanıdır. (Zhu ve diğ., 2021).

hvKP suşları tipik kapsülden daha sağlam olan mukoviskoz bir ekzopolisakkarit bakteriyel kaplamadan oluşan, hipermukoviskoz olarak da bilinen bir hiperkapsül üretir. Tüm kapsüllü bakteriler gibi, *K. pneumoniae* da besleyici bir ortamda mukoid koloniler üretir. Bu mukoid fenotip, hipermukoviskoz bir fenotipten farklıdır. Hipermukoviskoz fenotip string test olarak isimlendirilen bir test ile belirlenir. *Klebsiella* spp. kolonisinin üzerine öze ile dokundurulduğunda koloni uzaması >5 mm'den fazla ise hipermukoviskoz olarak değerlendirilir. *K. pneumoniae* izolatlarının tümü mukoid bir kapsül taşır fakat tüm mukoid kolonilerin string testi pozitif değildir. Bu fenomen, mukoid kapsül suşları ile hipermukoviskoz varyantlar arasındaki belirgin farkı vurgular. Uzak Doğu'dan gelen ilk raporlar, hipermukovistoz özellik gösteren varyantların birincil karaciğer, prostat, kemik,

böbrek ve akciğer apselerine neden olan invaziv enfeksiyonlar üretebileceğini göstermiştir. Bu birincil enfeksiyon bölgelerinden beyin ve gözlere metastatik komplikasyonlar da belgelenmiştir. Bu nedenle, hvKP ve kKP varyantları arasındaki temel farklar invaziv yetenek ve hipermukoviskoz fenotipten kaynaklandığı düşünülmüştür (Catalan-Najera ve diğ., 2017).

2.8.2. Lipopolisakkarit Yapı (LPS)

Lipopolisakkarit (LPS) yapı dış zara sabitlenmiş yüksek oranda korunmuş ve hidrofobik bir lipit A kısmı, LPS'nin en dış bileşeni olarak oldukça değişken olan O-antijeni kısmı ve lipit A ve O-antijeni bağlayan çekirdek polisakarit kısmı olmak üzere üç kısımdan oluşur. Hem kKP hem de hvKP olmak üzere tüm Gram-negatif bakterilerin endotoksini olarak bilinir. *K. pneumoniae*'de en az dokuz O-antijen grubu (O1, O2, O2ac, O3, O4, O5, O7, O8 ve O12) tanımlanmıştır. O1, klinik *K. pneumoniae* izolatları arasında en yaygın serotiptir ve ayrıca hipermukoviskoz (invaziv) suşlarda yaygındır. O-antijeninin biyosentezi altı genli bir *wb* lokusu tarafından kodlanan enzimler tarafından yürütülür. *wb* lokusu korunmuş bir gen organizasyonuna sahiptir ancak genler yüksek genetik çeşitlik gösterir. Bu da farklı O-antijen gruplarındaki yüksek kimyasal değişkenliği açıklar. *K. pneumoniae* O-antijeni, kompleman bileşenlerinin aktivatörlere (örn. porinler ve kaba LPS) erişimini engeller ve böylece kompleman aracılı öldürmeye karşı bakteriyel dirence katkıda bulunur. Bunun yanı sıra O1 serotip izolatlarında diğer izolatlara göre daha yüksek serum direnci vardır (Shankar-Sinha ve diğ., 2004; Li ve diğ., 2014; Follador ve diğ., 2016).

LPS'de çekirdek polisakarit bölgesi kavramsal olarak iki bölgeye ayrılır: bir lipit A proksimal iç çekirdek ve O antijeni için bağlanma yeri sağlayan bir dış çekirdek. *K. pneumoniae* için sadece iki tip (tip 1 ve tip 2) çekirdek polisakarit karakterize edilmiştir ve bunlar içerisinde 13 gen barındıran iki farklı *wa* gen lokusu ürünleri tarafından sentezlenmiştir. Tip 2 *wa* gen lokusu *hldD*, *waaF*, *waaC*, *wabK*, *waaL*, *wabM*, *waaQ*, *wabG*, *wabH*, *orf10*, *waaA*, *waaE* ve *coaD* genlerinden oluşur. İki *wa* gen lokusu yalnızca iki gende farklılık içerir. Tip 2 gen lokusunda bulunan *wabK* ve *wabM* genleri Tip 1'de yoktur. Bu genler yerine Tip 1 *wa* gen lokusunda *wabI* ve *wabJ* genleri mevcuttur (Izquierdo ve diğ., 2003; Li ve diğ., 2014). *waaC*, *waaF*, *wabH* ve *wabG* gibi her iki tip çekirdek polisakarit yapısındaki genlerin tek gen mutantları, farklı hayvan modellerinde

test edildiğinde virülans özelliklerinin zayıfladığı görülmüştür (Izquierdo ve diğ., 2003; Regue ve diğ., 2005; Fresno ve diğ., 2007; Clements ve diğ., 2008).

2.8.3. Sideroforlar

Bakteriler için metal demir temel metabolik süreçler için gerekli olan kritik bir elementtir. Hücre dışı sıvı içerisindeki demirin sınırlı mevcudiyeti, bakterilerin demiri hücre dışından almasını zorlaştırır. Bu durum spesifik olmayan bir şekilde demiri bağışıklık savunmasının bir parçası haline getirir. Bakteriler hayatta kalmak ve büyümek istiyorsa, bu demir elde etme zorluğunun üstesinden gelmek için taktikler uygulamalıdır. İnsanlar gibi konakçılarda, fizyolojik koşullar altında serbest demir (Fe^{+3}) çözünür halde değildir. Bunu bir sonucu olarak bakteriler demir alımı için yan bir demir alım sistemine ihtiyaç duyarlar (Miethke ve Marahiel, 2007). *K. pneumoniae*'de siderofor sistemleri enterobaktin (ent), yersiniabaktin (ybt), salmokein (iro) ve aerobaktin (iuc) olmak üzere dört siderofor ile ifade edilir ve bu siderofor sistemleri bakterilerin büyüme etkinliğini artırır (Paczosa ve Meccas, 2016).

Enterobaktin dört siderofor arasında en korunmuş olanıdır ve Fe^{+3} 'e yüksek bir afinitesi vardır. Enterobaktin sideroforu hem kKP, hemde hvKP izolatları için gereklidir. Enterobaktin biyosentezi için gerekli olan genler (*entABCDEF*) kromozomda *ent* gen lokusu üzerinde yer alır. Enterobaktinin hücre içerisine taşınmasına aracılık eden taşıma proteinleri ve spesifik reseptörü ise *fep* lokusu (*fepABCDG*) tarafından kodlanır (Bachman ve diğ., 2012). Konakçıda enfeksiyon sırasında nötrofiller de dahil olmak üzere birçok hücre tipinden salınan ve antimikrobiyal özellik gösteren çok işlevli bir protein Lipokalin-2 bulunur. Enterobaktin sideroforu, konakçı tarafından salgılanan molekül lipokalin-2 tarafından nötralize edilir (Chan ve diğ., 2009). *K. pneumoniae* suşlarının bazıları bu durumda lipokalin-2 etkisinden kaçmak için salmokein ve yersiniabaktin gibi alternatif sideroforlar üretirler. Salmokein ve yersiniabaktin sideroforlarını içeren suşlar lipokalin-2'nin varlığına rağmen hayatta kalabilir ve demiri bağlayabilirler (Bachman ve ark., 2012; Holden ve ark., 2014).

Lipokalin-2'den etkilenmeyen salmokein siderofu enterobaktinin yüksek oranda glikosile edilmiş formudur ve kromozom veya bir plazmit üzerinde bulunan *iroA* gen lokusu (*iroBCDEN*) tarafından sentezlenir. Bu lokus içerisindeki genler enterobaktinin modifiye ederek salmokeine dönüştürür ve sideroforun taşınmasında rol alır. *iroN* ise salmokein

için spesifik reseptör görevi görür ve salmokeinin hücre zarından taşınmasını sağlar (Fischbach ve diğ., 2006). Lipokalin-2 den etkilenmemesinden dolayı salmokeinin üreten *K. pneumoniae* suşlarının daha patojen olduğu tahmin edilebilir. Salmokeinin hvKP suşlarında çok daha yaygın olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur (Paczosa ve Meccas, 2016).

Diğer bir siderofor olan yersiniabaktinde salmokein gibi konakçı tarafından üretilen lipokalin-2 tarafından inhibe edilemez. Fakat konakçı tarafından üretilen bir diğer protein transferrin varlığında demiri bağlayamaz. Yersiniabaktin ilk olarak Gram negatif bakteriyel patojen *Yersinia*'da keşfedilmiştir ve günümüze kadar *K. pneumoniae* dahil olmak üzere diğer bakterilerde de tanımlanmıştır. Yersiniabaktin sentezi için gerekli proteinler *irp* genleri ve spesifik alım reseptörü *ybt* ve *fyu* genleri tarafından sentezlenir (Paczosa ve Meccas, 2016).

Aerobaktin *K. pneumoniae*'de tanımlanan bir diğer siderofor sistemidir ve bu siderofor hvKP ile yüksek oranda ilişkilidir. Aerobaktin hvKP suşlarının %90'ından fazlasında ifade edilirken kKP suşlarının yalnızca % 6'sında ifade edilir. Aerobaktin sideroforu diğer sideroforlar ile karşılaştırıldığında hvKP'ler için daha spesifiktir. Bu özellik areobaktini hipervirülansı belirlemek için güvenilir bir biyobelirteç yapar. Aerobaktin sentezi için gerekli olan *iuc* gen lokusunun (*iucABCD*) ve aerobaktin spesifik reseptör proteinini kodlayan *iutA* geni büyük bir virülans plazmiti üzerinde taşınır. Ayrıca *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 salmokeinin (*iroBDCE*) siderofor gen lokuslarını beraber taşıdıkları tespit edildi (Zhu ve diğ., 2021; Kochan ve diğ., 2022).

Bu dört ana siderofor sistemine ek olarak özellikle hvKP'lerde yaygın olan *kfu* demir alım sistemi *K. pneumoniae*'lerde tanımlanmıştır. 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).

2.8.4. Fimbrialar

Fimbrialar *K. pneumoniae* virülans faktörlerinin başka bir sınıfını temsil eder ve *K.pneumoniae* adhezyonunun önemli araçlarıdır. Enfeksiyon sürecinde kritik bir ilk adım olarak mikroorganizmalar konakçı mukozal yüzeylere mümkün olduğunca yaklaşmalı ve konakçı hücreye bağlanarak bu yakınlığı korumalıdır. Bu işlev *Enterobacteriaceae*'de pili veya fimbria olarak isimlendirilen bakteri yüzeyindeki iplikçi çıkıntılar ile gerçekleştirilir (Ofek ve Doyle, 2012).

K. pneumoniae'de Tip 1, Tip 3, Kpc ve KPF-28 adhezin olmak üzere en az dört tip fimbria deneysel olarak karakterize edilmiştir. Tip 1 fimbrialar hem klinik hem de çevresel *K. pneumoniae* izolatlarının % 90'ında ve *Enterobacteriaceae*'nin hemen hemen tüm üyelerinde ifade edilir. Tip 1 fimbria *K. pneumoniae* kromozomu üzerinde bulunan Tip 1 fimbria gen lokusundan (*fimBEAICDFGHK*) sentezlenir. Tip 1 fimbrialar, dış zar üzerindeki ince, sert, yapışkan, iplik benzeri yüzey uzantılarıdır. Bu uzantılar, uçlarında *fimH* geni tarafından sentezlenen bir adhesin molekülü FimH ile birlikte *fimA* geni tarafından sentezlenen tekrar eden FimA alt birimlerinden oluşur. *K. pneumoniae* Tip 1 fimbria FimH adheziyi yoluyla konakçı hücreler veya hücre dışı matrisler üzerindeki mannoz içeren yapılara bakteriyel yapışmaya aracılık eder. *K. pneumoniae* Tip 1 fimbria, idrar yolu enfeksiyonunun ilk oluşumu için gereklidir, ancak *K. pneumoniae*'nin bağırsakta kolonize olma veya akciğeri enfekte etme yeteneği üzerinde hiçbir etkisi yoktur (Li ve diğ., 2014; Paczosa ve Meccas, 2016).

K. pneumoniae Tip 3 fimbria, 2–4 nm genişliğinde ve 0,5–2 µm uzunluğunda uzantıları olan sarmal benzeri filamentlerdir. *K. pneumoniae*'de bu fimbrialar *mrkABCD* gen kümesi tarafından kodlanır. *mrkA*, sarmal fimbrial şaftı oluşturmak için polimerize olan fimbrial alt birimi kodlar. Kollajen moleküllerine bağlanma yeteneğine sahip adheziv alt birim, *mrkD* tarafından kodlanır ve fimbriaların ucunda bulunur. Tip 1 fimbriaya benzer bir şekilde, Tip 3 fimbria kodlayan operon hemen hemen tüm *K. pneumoniae* izolatlarında bulunur ve eksprese edilir. Tip 1 fimbriaların aksine, Tip 3 fimbrialar “mannoza duyarlıdır” ve bu nedenle mannozu bağlamazlar. Tip 3 fimbrialar, *K. pneumoniae* biyofilm oluşumuna önemli bir katkıda bulunur, ancak bağırsak ve akciğer enfeksiyonlarında rol oynamaz (Murphy ve Clegg, 2012; Li ve diğ., 2014; Paczosa ve Meccas, 2016).

Kpc fimbriaları, hipermukoviskoz *K. pneumoniae* ile oldukça ilişkili olan *kpcABCD* operonunun ürünleri tarafından sentezlenir ve birleştirilir. KpcA, Kpc fimbrialarının ana alt birim bileşenidir (Li ve diğ., 2014).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Klebsiella pneumoniae* İzolatları

Bu çalışmada kullanılan 108 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* (KDKp) izolatı Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından temin edilmiştir. İzolatlar 2018-2019 yılları arasında farklı kliniklerden gelen çeşitli örneklerden izole edilmiş ve tür tanımlamaları ve antibiyotik direnç profilleri Vitek-2 otomatize sistem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İzolatların demografik özellikleri Hastane KARMED Bilgi işlem sisteminden temin edilmiştir.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri

Klinik örneklerden izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının üretilmesi, total DNA izolasyonları ve diğer gerekli çalışmalarda kullanılmaları için Eozin Metilen Blue Agar (EMB), Luria Bertani Agar ve Luria Bertani Broth besiyerleri kullanılmıştır. EMB Agar besiyeri ticari olarak Merck (Almanya) Firmasından temin edilmiştir. Luria Bertani Broth ve Agar besiyeri 100 ml için 1 gr Tripton (Merck, Almanya), 0.5 gr Yeast Ekstrakt (HiMedia, Hindistan), 1 gr NaCl (Merck, Almanya) kullanılarak hazırlanmıştır. Agar besiyeri hazırlamak için 100 ml besiyerine 1.5 gr Bakteriyolojik Agar (HiMedia, Hindistan) ilave edilerek hazırlanmıştır. İzolatların tüm pasajlarında besiyerlerine son konsantrasyonda 10 µg/ml meropenem antibiyotiği ilave edilmiştir.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Primerler

Çalışmada *K. pneumoniae* izolatlarının karbapenemaz, GSBL, plazmit aracılı florokinolon (PMFQ) direnç genleri ve Sınıf-1 integron gen kasetlerinin, rep-PZR analizlerinde, Multiple Locus Strain Typing (MLST) analizlerinde, virülans genlerinin ve kapsül serotiplerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yardımı ile tespit edilmesi çalışmalarında kullanılan primer çiftleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan primerler

	Hedef Gen	Primer	Sekans (5'-3')	Kaynak
Karbapenemaz	<i>bla</i> _{OXA-48}	Fwd	TTGGTGGCATCGATTATCGG	Poirel ve diğ., 2004
		Rev	GAGCACTTCTTTTGTGATGGC	
	<i>bla</i> _{NDM-1}	Fwd	GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC	Poirel ve diğ., 2011
		Rev	CGGAATGGCTCATCACGATC	
	<i>bla</i> _{KPC}	Fwd	ATGTCACTGTATCGCCGTCT	Schechner ve diğ., 2009
		Rev	TTTTTCAGAGCCTTACTGCC	
	<i>bla</i> _{VIM}	Fwd	ATTGGTCTATTTGACCGCGTC	Jeon ve diğ., 2005
		Rev	TGCTACTCAACGACTGAGCG	
	<i>bla</i> _{IMP}	Fwd	CATGGTTTGGTGGTTCTTGT	
		Rev	ATAATTTGGCGGACTTTGGC	
GSBL	<i>bla</i> _{TEM}	Fwd	AGTATTCAACATTTYCGTGT	
		Rev	TAATCAGTGAGGCACCTATCTC	
	<i>bla</i> _{CTX-M1}	Fwd	GCGTGATACCACTTCACCTC	Iraz ve diğ., 2015
		Rev	TGAAGTAAGTGACCAGAATC	
	<i>bla</i> _{CTX-M2}	Fwd	TGATACCACCACGCCGCTC	
		Rev	TATTGCATCAGAAACCGTGGG	
	<i>bla</i> _{GES}	Fwd	ATGCGCTTCATTACGCAC	
		Rev	CTATTTGTCCGTGCTCAGGA	
	<i>bla</i> _{SHV}	Fwd	ATGCGTTATATTCGCCTGTG	Hanson ve diğ., 2002
		Rev	TTAGCGTTGCCAGTGCTC	
<i>bla</i> _{PER1}	Fwd	ATGAATGTCATCACAAAATG	Kiratisin ve diğ., 2008	
	Rev	TCAATCCGGACTCACT		
<i>bla</i> _{VEB}	Fwd	ATTTCCCGATGCAAAGCGT		
	Rev	TTATTCGGGAAGTCCCTGT		
<i>bla</i> _{OXA-1}	Fwd	TTTTCTGTTGTTTGGGTTTT	Coque ve diğ., 2008	
	Rev	TTTCTTGGCTTTTATGCTTG		
Kinolon	<i>qnrA</i>	Fwd	AGAGGATTTCTCACGCCAGG	Yang ve diğ., 2013
		Rev	TGCCAGGCACAGATCTTGAC	
	<i>qnrB</i>	Fwd	GGMATHGAAATTCGCCACTG	
		Rev	TTTGCYGYCYGCCAGTTCGAA	
<i>qnrS</i>	Fwd	GCAAGTTCATTGAACAGGGT		
	Rev	TCTAAACCGTTCGAGTTCGGCG		
<i>aac(6')-Ib-cr</i>	Fwd	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	Park ve diğ., 2006	
Rev	CTCGAATGCCTGGCGTGTTT			
Smf-1 İntegron	5'-CS	GGCATCCAAGCAGCAAG	Levesque ve diğ., 1995	
3'-CS	AAGCAGACTTGACCTGA			
<i>bla</i> _{CTX-M alt-tipi}	Fwd	TTTGCATGTGCAGTACCAGTAA	Edelstein ve diğ., 2003	
Rev	CGATATCGTTGGTGGTGCCATA			
Rep-PCR	Rep1	IIIGCGGICATCAGGC	Iraz vd., 2015	
	Rep2	ACGTCTTATCAGGCCTAC		

Tablo 3.1. (devam)

	Hedef Gen	Primer	Sekans (5'-3')	Kaynak
Virülans gen	<i>rmpA</i>	Fwd	ACTGGGCTACCTCTGCTTCA	Zhao ve diğ., 2019
		Rev	CTTGCATGAGCCATCTTTCA	
	<i>wcaG</i>	Fwd	GGTTGGKTCAGCAATCGTA	
		Rev	ACTATTCCGCCAACTTTTGC	
	<i>uge</i>	Fwd	GATCATCCGGTCTCCCTGTA	
		Rev	TCTTCACGCCTTCCTTCACT	
	<i>wabG</i>	Fwd	CGGACTGGCAGATCCATATC	
		Rev	ACCATCGGCCATTTGATAGA	
	<i>magA</i>	Fwd	GGTGCTCTTTACATCATTGC	
		Rev	GCAATGGCCATTTGCGTTAG	
	<i>fimH</i>	Fwd	TGCTGCTGGGCTGGTCGATG	
		Rev	GGGAGGGTGACGGTGACATC	
	<i>mrkD</i>	Fwd	CCACCAACTATTCCCTCGAA	
		Rev	ATGGAACCCACATCGACATT	
	<i>allS</i>	Fwd	CCGAAACATTACGCACCTTT	
		Rev	ATCACGAAGAGCCAGGTCAC	
	<i>ureA</i>	Fwd	GACAAGCTGTTGCTGTTTACC	
		Rev	CGGGTTGTGAACGGTGAC	
	<i>iutA</i>	Fwd	GTTGCGATTCTACCCGTTCC	
		Rev	GCCCGGTGGTGTAATCTTC	
	<i>ybtA</i>	Fwd	ATGACGGAGTCACCGCAAAC	
		Rev	TTACATCACGCGTTTAAAGG	
	<i>entB</i>	Fwd	ATTCCTCAACTTCTGGGGC	
		Rev	AGCATCGGTGGCGGTGGTCA	
	<i>kfuBC</i>	Fwd	GAAGTGACGCTGTTTCTGGC	
		Rev	TTTCGTGTGGCCAGTGACTC	
	<i>febA</i>	Fwd	CCTGCCGATTGATTCCTCG	
		Rev	CGTTACGATGGTGCTGTCAG	
<i>fyuA</i>	Fwd	ATATGGCAAAGCGCTCAGG		
	Rev	GGGTTAATCATGTCCGCCGTC		
<i>iroD</i>	Fwd	GCATAGGCGGATACGAACAT		
	Rev	CACAGGGCAATTGCTTACCT		
<i>iroN</i>	Fwd	GGCTACTGATACTTGACTATTC		
	Rev	CAGGATACAATAGCCCATAG		
<i>cnf-1</i>	Fwd	AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG	Candan ve Aksöz, 2015	
	Rev	CATTCAGAGTCCTGCCCTCATTATT		
<i>kpn</i>	Fwd	GTATGACTCGGGGAAGATTA		
	Rev	CAGAAGCAGCCACCACACG		
<i>ycfM</i>	Fwd	ATCAGCAGTCGGGTCAGC		
	Rev	CTTCTCCAGCATTACAGCG		
K-tip	<i>wzi</i>	Fwd	GTGCCGCGAGCGCTTTCTATCTTGGTATTCC	Brisse vd., 2013
		Rev	GAGAGCCACTGGTTCAGAAAYTTSACCGC	

Tablo 3.1. (devam)

	Hedef Gen	Primer	Sekans (5'-3')	Kaynak
MLST	<i>rpoB</i>	Fwd	GGCGAAATGGCWGAGAACCA	Zhan ve diğ., 2017
		Rev	GAGTCTTCGAAGTTGTAACC	
	<i>gapA</i>	Fwd	TGAAATATGACTCCACTCACGG	
		Rev	CTTCAGAAGCGGCTTTGATGGCTT	
	<i>mdh</i>	Fwd	CCCAACTCGCTTCAGGTTTCAG	
		Rev	CCGTTTTTCCCCAGCAGCAG	
	<i>pgi</i>	Fwd	GAGAAAAACCTGCCTGTACTGCTGGC	
		Rev	CGCGCCACGCTTTATAGCGGTTAAT	
	<i>phoE</i>	Fwd	ACCTACCGCAACACCGACTTCTTCGG	
		Rev	TGATCAGAAGTGGTAGGTGAT	
	<i>infB</i>	Fwd	CTCGCTGCTGGACTATATTCG	
		Rev	CGCTTTCAGCTCAAGAACTTC	
	<i>tonB</i>	Fwd	CTTTATACCTCGGTACATCAGGTT	
		Rev	ATTCGCCGGCTGRGCRGAGAG	

3.2. Yöntem

3.2.1. Çoklu Antibiyotik Direnç Fenotipi (MARP) ve Çoklu Antibiyotik Direnç İndeksi (MARI)

KDKp izolatlarının çoklu antibiyotik direnç fenotipi (MARP) ve çoklu antibiyotik direnç indeksi (MARI) tespit edildi. İzolatların MAR indeksi (MARI) daha önce açıklandığı gibi aşağıdaki matematiksel denklem kullanılarak hesaplandı (Fadare ve Okoh, 2021).

$$MAR \text{ indeksi} = b/c$$

Burada bakteri türlerinin dirençli olduğu antibiyotiklerin toplamı "b", bakteri türlerine karşı kullanılan antibiyotiklerin toplamı ise "c" ile gösterilir. MARI değerinin 0.2'den yüksek olması o bölgede yoğun bir antibiyotik kullanımının olduğunu ve Antimikrobiyal direncin çoğalma riskinin yüksek olduğu bir ortamı gösterir.

3.2.2. KDKp İzolatlarından Total DNA İzolasyonu

KDKp izolatları DNA izolasyonu için 10 µg/ml meropenem içeren LB Agar besiyerinde 37°C'de bir gece inkübasyona bırakıldı. İzolatlardan DNA izolasyonu iki metot ile gerçekleştirildi.

3.2.2.1. Kaynatma Yöntemi ile DNA İzolasyonu

İzolatlardan total DNA izolasyonu kaynatma DNA metoduna göre gerçekleştirildi. İzolatların taze bir gecelik kültürde üreyen izolatlardan bir öze dolusu alınıp, 500 µl steril distile su içeren ependorf tüplerine aktarıldı. Eppendorf tüpler vorteks yardımı ile karıştırılarak homojen bir süspansiyon elde edildi. Ependorf tüpleri 10 dk. süresince 100°C'ye ayarlı su banyosunda kaynatıldı. Daha sonra tüpler 5 dk. 14.800 rpm'de santrifüj edilip süpernatant kısım yeni bir tüpe aktarıldı. Elde edilen total DNA örnekleri tez boyunca belirlenmek istenen genlerin çoğaltılmasında kullanıldı. Elde edilen total DNA'lar kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı (Ausubel ve diğ., 1995).

3.2.2.2. Kit ile DNA İzolasyonu

Tez Çalışması boyunca DNA dizin analizi gerçekleştirilecek olan genlerin çoğaltılmasında kullanılan DNA örnekleri PureLink Mini DNA İzolasyon Kiti (Invitrogen, USA) kullanılarak, üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.

3.2.3. KDKp İzolatlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Tespiti

KDKp izolatlarında karbapenem antibiyotiklerine karşı direnç sağlayan *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} karbapenemaz genleri, β-laktam antibiyotiklerine direnç sağlayan *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-2}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{PER1}, *bla*_{VEB}, *bla*_{GES} GSBL genleri ve kinolon antibiyotiklerine direnç sağlayan PMFQ direnç genleri *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *aac(6')-ib-cr* PZR yardımı ile tespit edildi. Genlerin çoğaltılmasında kullanılan primerler Tablo 3.1'de verilmiştir. PZR reaksiyonları 25 µl son hacimde 12.5 µl 2XPCR Master Mix (Ampliçon, Danimarka), 0.5 µl 10 pmol/µl konsantrasyondaki herbir primer çiftinden ilave edilerek hazırlandı. Daha sonra reaksiyona kaynatma yöntemi ile izole edilen total DNA'dan 5 µl ilave edilerek son hacim 25 µl'ye steril dH₂O ile tamamlandı.

Her bir gen için primere bağlı olarak T_m sıcaklığı ve çoğaltılacak gen ürününün büyüklüğüne göre uzama zamanı parametreleri tespit edildi (Tablo 3.2). Bu parametreler belirlendikten sonra PZR döngüleri; ilk denetürasyon 95°C'de 3 dk., daha sonra 35 döngü denatürasyon 95°C'de 45 sn., primer bağlanma (T_m) sıcaklığında 45 sn., uzama 72°C'de gerekli sürede gerçekleştirildi. Son uzama basamağı 72°C'de 5 dk. olacak şekilde PZR döngüleri tamamlandı.

Tablo 3.2. Tespit edilen genler için PZR parametreleri

Genler	Tm (°C)	Büyükklüğü (bp)	Uzama süreleri (sn)
<i>bla</i> _{OXA-48}	58	743	60
<i>bla</i> _{NDM-1}	58	621	60
<i>bla</i> _{KPC}	58	893	60
<i>bla</i> _{VIM}	59	780	60
<i>bla</i> _{IMP}	56	448	50
<i>bla</i> _{TEM}	50	847	60
<i>bla</i> _{SHV}	56	843	60
<i>bla</i> _{CTX-M1}	55	260	30
<i>bla</i> _{CTX-M2}	55	341	30
<i>bla</i> _{PER1}	48	927	75
<i>bla</i> _{VEB}	55	542	60
<i>bla</i> _{OXA-1}	50	427	50
<i>bla</i> _{GES}	57	863	60
<i>qnrA</i>	59	580	75
<i>qnrB</i>	56	264	30
<i>qnrS</i>	56	428	50
<i>aac(6')-Ib-cr</i>	59	482	50
<i>rpoB</i>	58	1075	90
<i>gapA</i>	58	662	60
<i>mdh</i>	58	756	60
<i>pgi</i>	58	718	60
<i>phoE</i>	58	602	60
<i>infB</i>	58	462	50
<i>tonB</i>	58	414	50
Multipleks-1 <i>kpn</i>		626	
<i>iroN</i>	56	992	150
<i>magA</i>		1283	
Multipleks-2 <i>fimH</i>		688	
<i>uge</i>	58	534	120
<i>ureA</i>		270	
Multipleks-3 <i>entB</i>		371	
<i>fyuA</i>	58	204	90
Multipleks-4 <i>iutA</i>		248	
<i>iroD</i>	58	556	90
<i>kfuBC</i>		797	
Multipleks-5 <i>ycfM</i>		160	
<i>allS</i>	56	508	120
<i>ybtA</i>		960	
Multipleks-6 <i>rpmA</i>		535	
<i>wcaG</i>	56	169	90
<i>wabG</i>		683	
<i>mrkD</i>	56	226	30
<i>cnf-1</i>	58	498	50
<i>febA</i>	57	226	30

PZR işleminden sonra amplifiye olan PZR ürünleri etidyum bromür içeren %1'lik agaroz jel elektroforezinde 100 V'da 1 saat yürütüldü. PZR ürünleri UV ışığı altında görüntülendi.

Bantların varlığına ve beklenen büyüklüğüne göre incelenen genlerin izolatlarda bulunup bulunmadığına karar verildi. Pozitif olarak değerlendirilen bantlardan birkaçı seçilerek DNA dizin analizleri gerçekleştirildi ve sonuçlar doğrulandı.

3.2.4. KDKp izolatlarında *bla*_{CTX-M} Grup Alt-tiplerinin Belirlenmesi

KDKp izolatların *bla*_{CTX-M} grup alt-tiplerinin belirlenmesi için PZR reaksiyonları gerçekleştirildi. PZR reaksiyonları 25 µl son hacimde 12.5 µl 2XPCR Master Mix (Ampliqon, Danimarka), 0.5 µl 10 pmol/µl konsantrasyondaki CTX-M Fwd ve CTX-M Rev primerlerinden ilave ederek hazırlandı. Daha sonra reaksiyona kit ile izole edilen total DNA'dan 2 µl ilave edilerek son hacim 25 µl'ye steril dH₂O ile tamamlandı.

PZR döngüleri; ilk denetürasyon 95°C'de 3 dk., daha sonra 35 döngü denatürasyon 95°C'de 45 sn., primer bağlanma 55°C'de 45 sn., uzama 72°C'de 50 sn. ve 1 döngü son uzama basamağı 72°C'de 5 dk. olacak şekilde ayarlandı.

PZR işleminden sonra amplifiye olan PZR ürünleri etidyum bromür içeren %1'lik agaroz jel elektroforezinde 100 V'da 1 saat yürütüldü. PZR ürünleri UV ışığı altında görüntülendi. Pozitif tespit edilen bantlar DNA dizin analizleri için BMLabosis Firmasına gönderildi. Elde edilen diziler Bioedit programı ile işlendi ve GenBank NCBI Blast veri tabanında var olan diğer DNA sekansları ile karşılaştırılarak CTX-M grup alt-tipleri belirlendi.

3.2.5. KDKp İzolatlarında Sınıf-1 İntegron Gen Kasetlerinin Tespit Edilmesi

Çalışmada Sınıf-1 integron gen kasetlerinin varlığı PZR yardımı ile belirlendi. Sınıf-1 integron gen kasetlerinin çoğaltılmasında kullanılacak olan primerler Tablo 3.1'de verilmiştir. Özgü primerler vasıtasıyla gerçekleştirilen PZR işleminin reaksiyonu; 25 µL son hacimde 12.5 µl 2XPCR Master Mix (Ampliqon, Danimarka), 0.5 µl 10 pmol/µl konsantrasyondaki 5'-CS ve 3'-CS primerlerinden ilave ederek hazırlandı. Daha sonra reaksiyona kit ile izole edilen total DNA'dan 2 µl ilave edilerek son hacim 25 µl'ye steril dH₂O ile tamamlandı.

PZR programı ilk denetürasyon basamağı 95°C'de 3 dk, daha sonra 36 döngü 95°C'de 45 sn., 50°C'de 45 sn., 72°C'de 5 dk. 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 100 V'da 1 saat yürütüldü ve UV ışığı altında gözlemlendi. PZR

sonucunda oluşan fragmentler pJET1.2/Blunt vektörüne klonlandı ve dizi analizlerinin gerçekleştirilmesi için BMLabosis Firmasına gönderildi. Dizi analiz sonuçlarına göre integron gen kasetlerinin içerdiği genler belirlendi. Belirlenen gen içerikleri INTEGRALL nveri tabanında bulunan diğer gen içerikleri ile karşılaştırılarak integron gen kaseti sınıflandırılmaları gerçekleştirildi (URL-2).

3.2.6. Klonlama Çalışmaları

3.2.6.1. Rekombinant Vektörün Yapılandırılması

Çalışmamızda Sınıf-1 integron gen kasetlerinin PZR yardımı ile çoğaltılmasından sonra elde edilen tüm PZR fragmentleri CloneJet PZR ürünü klonlama kiti (ThermoScientific) kullanılarak pJET1.2/blunt vektörüne üretici firmanın önerileri doğrultusunda klonlandı.

Ligasyon reaksiyonu 2X Reaksiyon Bufferından 10 µl, PZR ürünlerinden 5 µl, pJET1.2/blunt Klonlama Vektöründen (50 ng/µl) 1 µl, T4 DNA ligaz enziminden 1 µl olacak şekilde hazırlandı ve 3 µl steril dH₂O ile son hacmi 20 µl'ye tamamlandı. Ligasyon reaksiyonu oda sıcaklığında (22°C) 5 dk. inkübe edildi. Daha ligasyon karışımı transformasyon deneyinde direkt olarak kullanıldı.

3.2.6.2. Kompetent Hücre Hazırlanması

Transformasyon deneyi için *E. coli* DH5α hücresi kullanıldı. İlk olarak hücre kompetent haline getirildi. *E. coli* DH5α hücreleri LB Broth besiyerine ekimi yapıldı ve 37 °C'de gece boyunca büyütüldü. Bir gecelik kültürden LB Broth besiyerine 1:100 oranında aşılama yapıldı. Hücreler 37°C'de yoğunlukları 600 nm dalga boyunda OD 0,4–0,5 olacak şekilde büyütüldü. Hücreler ardından 4°C'de 4.000×rpm hızda 5 dk santrifüj edildi ve pelletin üzerine 10 ml 100 mM soğuk CaCl₂ ilave edilerek elle çözümleri sağlandı. Hücreler 30 dk. buz üzerinde bekletildi ve tekrar 4°C'de 4.000×rpm hızında 5 dk santrifüj edildi. Pellet üzerine 2 ml 100 mM soğuk CaCl ilave edilerek çözünmesi sağlandı. Elde edilen kompetent hücreler +4°C'de 2 gün içerisinde kullanılmak üzere muhafaza edildi.

3.2.6.3. Transformasyon

Transformasyon deneyi Sambrok ve diğ., (1990) tanımladığı şartlarda gerçekleştirildi. Kompetent *E. coli* hücreleri mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve bu hücrelerin üzerlerine 10 µl ligasyon karışımından ilave edildi. Karışım 30 dk. buz üzerinde bekletildi ve daha

sonra 90 sn. 42°C’de bekletildi. Ardından ependorf tüplerinin içersisine 200 µl LB Broth besiyeri ilave edilerek 37°C’de 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda hücreler petri kaplarında bulunan 50 µg/ml ampisilin içeren LB-Agar besiyeri üzerine cam bagetle yayıldı. Petriler 37°C’de 1 gece inkübasyona bırakıldı.

3.2.6.4. Rekombinant Klonların Seçilimi

Transformasyon deneyinde, inkübasyonun ardından üremenin olduğu petri kaplarından 10 koloni seçilerek 50 µg/ml ampisilin içeren 3 ml LB broth besiyerine ekimleri gerçekleştirildi ve 37°C’de bir gece çalkalamalı inkübatörde büyütüldü. Ertesi gün kültürden 1 µl koloni PZR reaksiyonunda kullanıldı. Genlere özgü primerler vasıtasıyla yapılan koloni PZR reaksiyonu 20 µl son hacimde, 1X PCR Master Mix, 0.3 pmol/µl herbir primerden ve 1 µl gecelik kültürden olacak şekilde hazırlandı. PZR programı ilk denetürasyon basamağı 95°C’de 15 dk, daha sonra 36 döngü 95°C’de 45 sn., 50°C’de 45 sn., 72°C’de 5 dk 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 100 V’da 1 saat yürütüldü ve UV ışığı altında doğru klonlar ana PZR fragmentleri (klonlamada kullanılan ilk PZR fragmentleri) ile karşılaştırılarak seçildi.

Tespit edilen doğru klonlardan plazmitler Plazmit Miniprep Kiti (Thermo Scientific) kullanılarak elde edildi ve DNA dizilerinin tespiti için BmLabosis firmasına gönderildi. Elde edilen diziler Bioedit programı ile işlendi ve GenBank NCBI Blast veri tabanında var olan diğer DNA sekansları ile karşılaştırılarak Sınıf-1 integron gen içeriği belirlendi.

3.2.7. KDKp İzolatlarında Moleküler Epidemiyoloji

3.2.7.1. rep-PZR (Repetitive Extragenic Palindromic-PCR) Analizi

Bu tez çalışmasında KDKp izolatlarının genotipik çeşitliliğini belirlemek için DNA finger printing yöntemlerinden biri olan rep-PZR analizi kullanılmıştır. REP1 ve REP2 primerleri vasıtasıyla gerçekleştirilen PZR reaksiyonu; 50 µL son hacimde 1X Taq DNA polimeraz Buffer, 1.5 mM MgCl₂, 200 µM dNTPmix, 10 pmol/µl herbir primerden, 1.5 U Taq DNA polimeraz olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımına kitle izole edilen genomik DNA’lardan 50 ng/µl olarak şekilde ilave edildi. PZR programı ilk denetürasyon basamağı 95°C’de 3 dk, daha sonra 30 döngü 95°C’de 45 sn., 45°C’de 1 dk., 72°C’de 8 dk. ve son uzama basamağı ise 72°C’de 15 dk. olacak şekilde oluşturuldu. Yapılan PZR işlemi

sonrasında, ürünler % 1,5 agaroz jelde DNA ladder ile yürütülüp, oluşacak olan bant fragmentleri UV ışığı altında görüntülendi. Her bir bant tüm örnekler için var yok şeklinde değerlendirilip fasta formatında bir matriks hazırlandı. Daha sonra matriks Mega.X programında UPGAMA kullanılarak işlendi ve dendogramlar oluşturuldu.

3.2.7.2. Multi-Lokus Sekans Tipi (Multi-Locus Sequence Typing-MLST)

KDKp izolatlarının epidemiyolojik olarak yayılımını ve dünyadaki diğer salgınlarda tespit edilen *K. pneumoniae* izolatları ile ilişkisini belirlemek amacı ile Multi-locus sekans tiplendirilmesi gerçekleştirildi. KDKp izolatlarından kit ile izolasyon yapılarak elde edilen bakteriyel DNA'lar yedi yaşamsal genin (housekeeping) çoğaltılmasında kullanıldı. Bu genler PubMLST web sitesinde belirtilen *rpoB*, *pgi*, *mdh*, *infB*, *gapA*, *tonB* ve *phoE* genleridir (URL-3).

Genlere özgü primerler kullanılarak (Tablo 3.1) gerçekleştirilen PZR işleminin reaksiyonu; 50 µL son hacimde 1X Taq Buffer, 1.5 mM MgSO₄, 200 µM dNTPmix, 0,3 pmol/µl herbir primerden, 2U Taq DNA polimeraz olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımına izole edilen genomik DNA'lardan 50 ng/µl olarak şekilde ilave edildi. PZR programı ilk denetürasyon basamağı 95°C'de 3 dk, daha sonra 36 döngü 95°C'de 45 sn., Tm sıcaklığında (Tablo 3.2) 45 sn., 72°C'de 1.5 dk. ve son uzama basamağı ise 72°C'de 5 dk. olacak şekilde oluşturuldu. PZR ürünleri etidyum bromür içeren % 1'lik agaroz jel elektrofoerisinde 100 V'da yürütüldü ve UV ışığı altında görüntülendi. Çoğaltılan fragmentler dizi analizlerinin gerçekleştirilmesi için BMLabosis firmasına gönderildi. DNA dizin analizlerine göre sekans tipleri (STs) PubMLST mevcut veri tabanı kullanılarak atandı (Jin ve diğ., 2018).

3.2.8. KDKp İzolatlarının Virülans Gen İçeriğinin Belirlenmesi

KDKp izolatlarında literatürlerde gerçekleştirilen çalışmalar incelenerek tespit edilen 20 virülans geni PZR yardımı ile araştırıldı. Aynı zamanda izolatların hipermukoviskozite özelliklerini belirlemek için string test kullanılmıştır (Candan ve Aksöz, 2015; Zhao ve diğ., 2019).

String testi için KDKp izolatları EMB besiyerinde üretildi. Üreyen kolonilerin üzerine steril öze ile dokunulup yukarıya doğru çekildi. Sümüksü bir yapıda yaklaşık >5 mm uzayan koloniler hipermukoviskozite pozitif olarak değerlendirildi (Liu ve diğ., 2014).

Virülans genlerinin araştırılmasında 6 multipleks ve *fepA*, *cnf-1* ve *mrkD* genleri için simpleks PZR reaksiyonu kullanılmıştır. Tüm PZR reaksiyonları 25 µl son hacimde 2X Master Mix (Ampliqon, Danimarka)'ten 12.5 µl, 10 pmol/µl konsantrasyona sahip primer çiftlerinden 0.5 µl alınarak hazırlanmıştır. Hazırlanan reaksiyonların üzerine 5 µl kaynatma DNA ilave edilerek son hacim steril dH₂O ile 25 µl'ye ayarlanmıştır.

PZR programı ilk denetürasyon basamağı 95°C'de 3 dk, daha sonra 36 döngü 95°C'de 50 sn., Tm sıcaklıklarında (Tablo 3.2) 50 sn., 72°C'de fragment uzunluğuna 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 100 V'da 1 saat yürütüldü ve UV ışığı altında görüntüledi. DNA ladder bantları ile karşılaştırılarak genlerin varlığı tespit edildi. Bantların varlığına ve beklenen büyüklüğüne göre incelenen genlerin izolatlarda bulunup bulunmadığına karar verildi. Pozitif olarak değerlendirilen bantlardan birkaçı seçilerek DNA dizin analizleri gerçekleştirildi ve sonuçlar doğrulandı.

Gerçekleştirilen multipleks reaksiyonlardaki genler aşağıda verilmiştir.

Multipleks 1: *kpn*, *iroN* ve *magA* genleri

Multipleks 2: *fimH*, *uge* ve *ureA* genleri

Multipleks 3: *entB*, *fyuA* genleri

Multipleks 4: *iutA*, *iroD*, *kfuBC* genleri

Multipleks 5: *ycfM*, *allS*, *ybtA* genleri

Multipleks 6: *rpmA*, *wcaG*, *wabG* genleri

3.2.9. Kapsül Serotipinin Belirlenmesi

KDKp izolatlarının kapsül tipleri *wzi* gen sekansları temel alınarak gerçekleştirildi (Brise ve diğ., 2013). İzolatların *wzi* genleri Tablo 3.1'de verilen primerler kullanılarak PZR yardımı ile tespit edildi. PZR reaksiyonu 2XPCR Master Mix'ten (AMPLIQON, Danimarka) 12.5 µl, 10 pmol/µl ileri ve geri primerlerden 0.5 µl alınarak hazırlanan PZR reaksiyonunun son hacmi steril dH₂O ile 25 µl'ye tamamlandı.

PZR programı ilk denetürasyon basamağı 95°C’de 3 dk, daha sonra 36 döngü 95°C’de 50 sn., 58°C’de 50 sn., 72°C’de 1 dk. 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 100 V’da 1 saat yürütüldü ve UV ışığı altında görüntülendi. Tespit edilen *wzi* gen ürünleri DNA dizin analizlerinin gerçekleştirilmesi için BMLabosis firmasına gönderildi.

Klebsiella pneumoniae izolatlarının kapsül tipleri (K-tip), elde edilen *wzi* sekanslarının *Klebsiella* PasteurMLST veri bankasında var olan ilgili sekanslar ile karşılaştırılmasıyla belirlendi (URL-4).

3.2.10. GenBank Kabul Numaraları

Bu tez çalışmasında MLST analizleri için kullanılan *infB* gen sekanslarına ON556787- ON556842 numaraları arasında, *mdh* gen sekanslarına ON556843- ON556898 numaraları arasında, *phoE* gen sekanslarına ON556899- ON556954 numaraları arasında, *rpoB* gen sekanslarına ON556955- ON557010 numaraları arasında, *pgi* gen sekansları ON557011- ON557066 numaraları arasında, *tonB* gen sekanslarına ON557067- ON557122 numaraları arasında, *gapA* gen sekanslarına ON557179- ON557234 numaraları arasında GenBank Kabul Numaraları alınmıştır.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında kapsül tipinin (K-tipi) belirlenmesi için kullanılan *wzi* gen sekanslarına ON557123- ON557178 numaraları arasında GenBank Kabul Numaraları alınmıştır.

4.BULGULAR

Bu tez çalışmasında, 2018-2019 yılları arasında Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarına yoğun bakım ve çeşitli kliniklerin servislerinde yatan hastalardan alınan çeşitli klinik örneklerden izole edilen KDKp izolatları Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından temin edilmiş ve çalışmaya katılmıştır. Toplamda 108 KDKp izolatının tanımlanması Vitek-2 Otomatize Sistem (Biomeriux, Paris) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan PZR çalışmaları sonucunda 108 KDKp izolatlarının 53'ünün (% 49.07) NDM-1 tipi karbapenemaz enzim içerdiği tespit edildi. NDM-1 tipi karbapenemaz içerdiği tespit edilen 53 *K. pneumoniae* izolatı çalışmaya dahil edildi.

4.1.KDKp İzolatlarının İzolasyonu

Çalışmaya dahil edilen 53 KDKp izolatının demografik ve klinik özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir. İzolatların 24'ü (% 45.28) idrar, 12'si (% 22.64) kan, 8'i (% 15.09) yara, 7'si (% 13.20) trakeal aspirat kültürü ve 2'si (% 3.77) balgam kültürlerinden izole edildi (Tablo 4.1). Örneklerin 41'i (% 77.35) Yoğun Bakımdan, 4'ü (% 7.54) Kroner Yoğun Bakımdan, 1'er örnek (% 1.88) Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon, Üroloji, Acil servis, Beyin Cerrahisi, Nefroloji servisi, İntaniye, Kalp Damar Cerrahisi ve Evde Sağlık Hizmeti olmak üzere çeşitli birimlerden gelmiştir. Örneklerin 28'i (% 52.83) erkek 25'i (% 47.17) kadın hastalardan alınmıştır.

4.2.KDKp İzolatların Çoklu Antibiyotik Direnç Fenotipi (MARP) ve Çoklu Antibiyotik Direnç İndeksinin (MARI) Belirlenmesi

Çalışmada 53 KDKp izolatının çoklu antibiyotik direnç fenotipleri belirlendi. Yapılan antibiyogram çalışması sonucunda 53 izolatın tümü (%100) Ampisilin, Sefazolin, Sefuroksim, Sefiksim, Seftazidim, Seftriakson, Sefepim, Sefpodiksim, Ertapenem, İmipenem, Meropenem, Siproflaksasin, Netilmisin ve Tobramisin antibiyotiklerine dirençli olduğu tespit edildi.

Tablo 4.1. KDKp izolatların demografik ve klinik özellikleri ve antibiyotik duyarlılık profilleri*

İzolat	Cinsiyet	Örnek Türü	Klinik	MARİ	AM	SXT	CXM	CFM	CAZ	CRO	ETP	IPM	MEM	AK	CN	CIP	FF	F	TPZ	LEV	TGC	CT	FEP	NET	TOB	CZ	CPD
KP69	E	Kan	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP71	E	İdrar	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP73	E	İdrar	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP75	K	İdrar	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
KP78	E	İdrar	FTR	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP79	E	Balgam	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
KP80	E	Kan	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP84	K	Yara	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP86	K	Yara	YB	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
KP87	K	Kan	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP88	E	Yara	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP89	E	Kan	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP92	E	Kan	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP95	K	İdrar	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP96	E	İdrar	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP102	K	Kan	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Tablo 4.1. (devam)

İzolant	Cinsiyet	Örnek Türü	Klinik	MARI	AM	SXT	CXM	CFM	CAZ	CRO	ETP	IPM	MEM	AK	CN	CIP	FF	F	TPZ	LEV	TGC	CT	FEP	NET	TOB	CZ	CPD	
KP104	K	Kan	YB	0,79	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP107	K	İdrar	YB	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
KP109	K	İdrar	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
KP111	E	TAK	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
KP113	K	TAK	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP115	E	TAK	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
KP117	E	Kan	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP120	K	Balgam	BSC	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R
KP124	K	İdrar	YB	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
KP126	K	Yara	KDC	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R
KP127	E	Kan	YB	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R
KP128	K	İdrar	YB	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R
KP129	K	İdrar	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP132	K	TAK	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP133	K	İdrar	KYB	0,91	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP137	E	İdrar	YB	0,87	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R

Tablo 4.1. (devam)

İzolant	Cinsiyet	Örnek Türü	Klinik	MARI	AM	SXT	CXM	CFM	CAZ	CRO	ETP	IPM	MEM	AK	CN	CIP	FF	F	TPZ	LEV	TGC	CT	FEP	NET	TOB	CZ	CPD
KP138	E	Kan	YB	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R
KP139	E	İdrar	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP140	E	İdrar	YB	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R
KP142	E	Yara	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP143	E	Kan	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP144	E	TAK	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
KP145	K	İdrar	ESH	0,87	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP149	E	İdrar	ÜRO	0,87	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
KP150	K	İdrar	NEF	0,87	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R
KP151	K	İdrar	YB	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
KP153	E	Yara	KYB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
KP154	K	TAK	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP155	K	Yara	EHKM	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R
KP156	E	İdrar	KYB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP157	K	Yara	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
KP158	E	İdrar	AS	0,91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Tablo 4.1. (devam)

İzolat	Cinsiyet	Örnek Türü	Klinik	MARİ	AM	SXT	CXM	CFM	CAZ	CRO	ETP	IPM	MEM	AK	CN	CIP	FF	F	TPZ	LEV	TGC	CT	FEP	NET	TOB	CZ	CPD
KP163	E	Kan	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP165	K	İdrar	YB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP168	K	İdrar	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP170	E	TAK	YB	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
KP172	E	İdrar	KYB	0,95	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

*; E: Erkek, K: Kadın, TAK: Trakeal Aspirat Kültürü, YB: Yoğun Bakım, FTR: Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, BSC: Beyin ve Sinir Cerrahisi, KDC: Kalp ve Damar Cerrahisi, ÜRO: Üroloji, NEF: Nefroloji, EHKM: Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, AS: Acil Servis, KYB: Koroner Yoğun Bakım, ESH: Evde Sağlık Hizmetleri, MARİ: Çoklu Antibiyotik Direnç İndeksi, AMP: Ampisilin, SXT: Trimethoprim/Sulfamethoxazole, CXM: Cefuroxime, CFM: Cefixime, CAZ: Ceftazidime, CRO: Ceftriaxone, ETP: Ertapenem, IPM: Imipenem, MEM: Meropenem, AK: Amikacin, CN: Gentamicin, CIP: Ciprofloxacin, FF: Fosfomicin, F: Nitrofurantoin, TPZ: Piperacillin/Tazobactam, LEV: Levofloxacin, TGC: Tigecycline, CT: Colistin, FEP: Cefepime, NET: Netilmicin, TOB: Tobramycin, CZ: Cefazolin, CPD: Cefpodoxime, R: Dirençli, S: Duyarlı

Yapılan çalışma sonucunda 53 izolatın 51'inin (% 96.22) Piperasilin/Tazobaktam, 50'sinin (%94.33) Amikasin ve Trimetoprim/sulfametoksazol, 48'inin (% 90.56) Gentamisin ve Nitrofurantoin, 46'sının (% 86.79) Tigesiklin, 45'inin (% 84.9) Levoflaksasin, 42'sinin (% 79.24) Fosfomisin ve 39'unun (% 73.58) Kolistin dirençli olduğu tespit edildi (Tablo 4.1). KDKp izolatlarından 20'si (% 37.73) kullanılan 23 antibiyotiğin hepsine dirençli olduğu tespit edildi. İzolatların 15'i (% 28.30) kullanılan 23 antibiyotiğin 22'sine, 13'ü (% 24.52) kullanılan 23 antibiyotiğin 21'ine, 4'ü (% 7.54) kullanılan 23 antibiyotiğin 20'sine ve 1 (% 2) kullanılan 23 antibiyotiğin 18'ine dirençlidir.

KDKp izolatlarının MAR indeksleri araştırıldığında; izolatların 20'sinin MAR indeksi 1 olarak belirlendi. MAR indeksi 15 izolatda 0.95, 13 izolatda 0.91, 4 izolatda 0.87 ve 1 izolatda 0.78 olarak belirlendi. Gerçekleştirilen çalışma sonucunda 53 KDKp izolatının MAR indeksi 0.2'den büyük olduğu tespit edildi (Tablo 4.1).

KDKp izolatlarında direnç profilleri incelendiğinde; 21 izolatda AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, FF, F, TPZ, LEV, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD dirençlerinin beraber bulunduğu tespit edildi ve bu profil en fazla tespit edilen profildir. KDKp izolatlarında tespit edilen diğer direnç profilleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. KDKp izolatlarında antibiyotik direnç profilleri

ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİ	Dirençli olunan antibiyotik sayısı	İzolot sayısı	%
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, FF, F, TPZ, LEV, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	23	20	37.5
AM,SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, FF, F, TPZ, LEV, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	21	6	10.72
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, FF, F, TPZ, LEV, TGC, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	22	4	7.16
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, FF, F, TPZ, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	22	4	7.16
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, F, TPZ, LEV, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	22	4	7.16
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, FF, TPZ, LEV, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	22	2	3.57
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, FF, F, TPZ, TGC, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	21	2	3.57
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, F, TPZ, LEV, TGC, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	21	2	3.57
AM, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CIP, FF, F, TPZ, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	20	2	3.57
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, CN, CIP, FF, F, TPZ, LEV, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	22	1	1.78
AM, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, FF, F, TPZ, LEV, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	22	1	1.78
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, F, TPZ, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	21	1	1.78
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, FF, LEV, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	21	1	1.78
AM, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, F, TPZ, LEV, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	21	1	1.78
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CIP, F, TPZ, LEV, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	21	1	1.78
AM, SXT, CXM, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, CIP, FF, TPZ, LEV, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	20	1	1.78
AM, SXT, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, AK, CN, CIP, F, TPZ, LEV, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	20	1	1.78
AM, SXT, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, ETP, IPM, MEM, CIP, LEV, TGC, CT, FEP, NET, TOB, CZ, CPD	18	1	1.78

AMP: Ampisilin, SXT:Trimethoprim/Sulfamethoxazole, CXM:Cefuroxime, CFM: Cefixime, CAZ: Ceftazidime, CRO: Ceftriaxone, ETP: Ertapenem, IPM: Imipenem, MEM: Meropenem, AK:Amikacin, CN: Gentamicin, CIP: Ciprofloxacin, FF: Fosfomycin, F: Nitrofurantoin, TPZ: Piperacillin/Tazobactam, LEV: Levofloxacin, TGC:Tigecycline, CT: Colistin, FEP: Cefepime, NET: Netilmicin, TOB: Tobramycin, CZ: Cefazolin, CPD: Cefpodoxime

4.3. KDKp İzolatlarında Antibiyotik Direnç Gen Profilleri

*bla*_{NDM-1} pozitif 53 *K. pneumoniae* izolatında fenotipik olarak gözlenen antibiyotik dirençlerinin gen düzeyinde tespiti gerçekleştirildi. Karbapenem grubu antibiyotiklere direnç oluşumunu sağlayan *bla*_{OXA-48}, *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM} ve *bla*_{IMP} genleri 53 izolatda PZR

yardımı ile belirlendi. Gerçekleştirilen çalışma sonucunda; 53 izolatın 38'inin (% 71.69) *bla*_{OXA-48} pozitif olduğu tespit edildi. Hiçbir izolatda KPC, VIM ve IMP tipi β-laktamaz belirlenemedi. Çalışmada 38 *K. pneumoniae* izolatında NDM-1 ve OXA-48 tipi karbapenemazın birlikte bulunduğu tespit edildi (Tablo 4.3).

Çalışmada GSBL varlığının tespiti için *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{VEB}, *bla*_{GES} ve *bla*_{PER-1} genleri araştırıldı. Yapılan PZR reaksiyonları sonucunda izolatların tümünün (% 100) *bla*_{CTX-M1} GSBL taşıdığı tespit edildi. İzolatların 49'unun (% 92.45) *bla*_{TEM}, 47'si (% 88.67) *bla*_{SHV} ve *bla*_{OXA-1}, 11'i (% 20) *bla*_{CTX-M2} ve 2'si (% 4) *bla*_{VEB} pozitif bulundu. GES ve PER-1 tipi β-laktamaz enzimleri hiçbir izolatda tespit edilmedi. *K. pneumoniae* Kp71 izolatı taşıdığı 6 β-laktamaz direnç geni ile en fazla beta-laktamaz genine sahip izolatdır (Tablo 4.3).

Çalışmada *bla*_{CTX-M} grup alt-tipinin belirlenmesi için gerçekleştirilen PZR sonucunda tüm izolatlarda yaklaşık 550 bp PZR fragmenti elde edildi. PZR fragmentlerinin DNA dizin analizleri sonucunda izolatların 52'sinin (% 98.11) *bla*_{CTX-M15} alt-tipine sahip olduğu, 1 izolatın ise (Kp78) *bla*_{CTX-M14b} alt-tipine sahip olduğu tespit edildi (Tablo 4.3).

Çalışmada kinolon grubu antibiyotiklere karşı direnç gelişimini sağlayan PMFQ direnç genleri araştırıldı. Yapılan PZR reaksiyonları sonucunda bütün izolatların *aac-6'-Ib-cr* geni açısından pozitif olduğu tespit edildi. İzolatların 48'i (% 90.56) *qnrS* pozitif olarak bulunurken 5'i (% 9.43) *qnrB* geni açısından pozitif bulundu. Gerçekleştirilen çalışmada hiçbir izolatda *qnrA* geni tespit edilemedi. Çalışmamızda *K. pneumoniae* Kp71 ve Kp80 izolatları taranan 17 antibiyotik direnç geninin 10'unu içererek en fazla direnç genine sahip olan izolatlardır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. KDKp izolatlarında antibiyotik direnç genleri

	Karbapenemaz					GSBL								PMFQ				Sınıf-1 integron			
	<i>bla</i> _{NDM-1}	<i>bla</i> _{OXA-48}	<i>bla</i> _{IMP}	<i>bla</i> _{VIM}	<i>bla</i> _{KPC}	<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{SHV}	<i>bla</i> _{CTX-M1}	<i>bla</i> _{CTX-M2}	<i>bla</i> _{CTX-M alt-tip}	<i>bla</i> _{VEB}	<i>bla</i> _{GES}	<i>bla</i> _{OXA-1}	<i>bla</i> _{PER-1}	<i>qnrA</i>	<i>qnrS</i>	<i>qnrB</i>	<i>aac-6'-Ib-cr</i>	Sınıf-1 integron	bp	Gen kasetleri
Kp69	+	+	-	-	-	+	+	+	+	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp71	+	-	-	-	-	+	+	+	+	M15	+	-	+	-	-	+	+	-	-		
Kp73	+	+	-	-	-	+	+	+	+	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp75	+	+	-	-	-	+	+	+	+	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp78	+	-	-	-	-	+	+	+	-	M14b	+	-	-	-	-	+	+	+	-		
Kp79	+	+	-	-	-	+	+	+	+	M15	-	-	+	-	-	-	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp80	+	+	-	-	-	+	+	+	+	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp84	+	+	-	-	-	+	+	+	+	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp86	+	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp87	+	+	-	-	-	+	+	+	+	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	-		
Kp88	+	+	-	-	-	+	+	+	+	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp89	+	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp92	+	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp95	+	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp96	+	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp102	+	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp104	+	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp107	+	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp109	+	-	-	-	-	+	+	+	+	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	-		
Kp111	+	+	-	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp113	+	+	-	-	-	+	+	+	+	M15	-	-	-	-	-	+	+	+	-		

Tablo 4.3. (devam)

Karbapenemazlar					GSBL								PMFQ				Sınıf-1 integron				
<i>bla</i> _{NDM-1}	<i>bla</i> _{OXA-48}	<i>bla</i> _{IMP}	<i>bla</i> _{VIM}	<i>bla</i> _{KPC}	<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{SHV}	<i>bla</i> _{CTX-M1}	<i>bla</i> _{CTX-M2}	<i>bla</i> _{CTX-M alt-tip}	<i>bla</i> _{VEB}	<i>bla</i> _{GES}	<i>bla</i> _{OXA-1}	<i>bla</i> _{PER-1}	<i>qnrA</i>	<i>qnrS</i>	<i>qnrB</i>	<i>aac-6'-Ib-cr</i>	Sınıf-1 integron	bp	Gen kasetleri	
Kp115	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp117	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp120	+	-	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-		
Kp124	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp126	+	+	-	-	-	+	-	+	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp127	+	-	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp128	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp129	+	-	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp132	+	+	-	-	-	+	-	+	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp133	+	-	-	-	-	+	-	+	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-		
Kp137	+	+	-	-	-	+	-	+	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-		
Kp138	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp139	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp140	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp142	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp143	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp144	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-		
Kp145	+	-	-	-	-	+	-	+	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-		
Kp149	+	+	-	-	-	-	+	+	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-		
Kp150	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp151	+	-	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>

Tablo 4.3. (devam)

Karbapenemazlar					GSBL								PMFQ				Sınıf-1 integron			
<i>bla</i> _{NDM-1}	<i>bla</i> _{OXA-48}	<i>bla</i> _{IMP}	<i>bla</i> _{VIM}	<i>bla</i> _{KPC}	<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{SHV}	<i>bla</i> _{CTX-M1}	<i>bla</i> _{CTX-M2}	<i>bla</i> _{CTX-M alt-tüp}	<i>bla</i> _{VEB}	<i>bla</i> _{GES}	<i>bla</i> _{OXA-1}	<i>bla</i> _{PER-1}	<i>qnrA</i>	<i>qnrS</i>	<i>qnrB</i>	<i>aac-6'-Ib-cr</i>	Sınıf-1 integron	bp	Gen kasetleri
Kp153	+	-	-	-	+	-	+	-	M15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp154	+	+	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp155	+	+	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp156	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	-	-	-	+	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp157	+	+	-	-	-	+	+	-	M15	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp158	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp163	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-
Kp165	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp168	+	+	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp170	+	+	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>
Kp172	+	-	-	-	+	+	+	-	M15	-	-	+	-	-	+	-	+	+	1915	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>

Çalışmamızda izolatlarının direnç gen profilleri incelendiğinde 53 KDKp izolatının 19 farklı direnç gen profiline sahip olduğu görülmektedir. İzolatlar arasında en yaygın olan Profil-1 dir. 21 izolat (% 39.62) (Kp86, Kp89, Kp92, Kp95, Kp96, Kp102, Kp104, Kp107, Kp117, Kp124, Kp128, Kp138, Kp139, Kp140, Kp142, Kp143, Kp144, Kp154, Kp155, Kp168, Kp170) tespit edilen Profil-1 *bla*_{NDM-1}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{OXA-1}, *qnrS*, *aac-6'-Ib-cr* direnç genlerini içermektedir. Bu profili 7 (% 13.20) izolat (Kp120, Kp129, Kp151, Kp158, Kp163, Kp165, Kp172) görülen *bla*_{NDM-1}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{OXA-1}, *qnrS*, *aac-6'-ib-cr* direnç genlerini içeren Profil-2 takip etmektedir. Çalışmamızda belirlediğimiz diğer profiller sırasıyla KP75, KP84, KP87, KP88 izolatlarında belirlenen Profil-3, KP126, KP132, KP137 izolatlarında belirlenen Profil-4, KP69, KP73 izolatlarında belirlenen Profil-5, KP111 ve KP149 izolatlarında belirlenen Profil-6, KP133 ve KP145 izolatlarında belirlenen Profil-7, KP71 izolatında belirlenen Profil-8, KP80 izolatında belirlenen Profil-9, KP109 izolatında belirlenen Profil-10, KP113 izolatında belirlenen Profil-11, KP78 izolatında belirlenen Profil-12, KP150 izolatında belirlenen Profil-13, KP127 izolatında belirlenen Profil-14, KP115 izolatında belirlenen Profil-15, KP156 izolatında belirlenen Profil-16, KP157 izolatında belirlenen Profil-17, KP153 izolatında belirlenen Profil-18, KP79 izolatında belirlenen Profil-19 gelmektedir. Bu profillerde bulunan direnç gen içerikleri Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4. KDKp izolatlarında belirlenen antibiyotik direnç gen profilleri

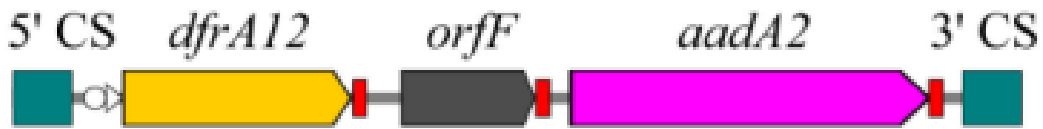
Profil Tipi	<i>bla</i> _{NDM-1}	<i>bla</i> _{OXA-48}	<i>bla</i> _{IMP}	<i>bla</i> _{VIM}	<i>bla</i> _{KPC}	<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{SHV}	<i>bla</i> _{CTX-M1}	<i>bla</i> _{CTX-M2}	<i>bla</i> _{OXA-1}	<i>bla</i> _{VEB}	<i>bla</i> _{GES}	<i>bla</i> _{PER-1}	<i>qnrA</i>	<i>qnrS</i>	<i>qnrB</i>	<i>aac-6'-tb-cr</i>	İzolat sayısı	%
Profil-1	■	■				■		■		■					■		■	21	39.62
Profil-2	■					■		■	■						■		■	7	13.20
Profil-3	■																■	4	7.54
Profil-4	■					■									■		■	3	5.66
Profil-5	■					■		■								■	■	2	3.77
Profil-6	■								■						■		■	2	3.77
Profil-7	■					■											■	2	3.77
Profil-8	■					■		■			■						■	1	1.88
Profil-9	■					■		■									■	1	1.88
Profil-10	■					■		■							■		■	1	1.88
Profil-11	■									■							■	1	1.88
Profil-12	■								■		■						■	1	1.88
Profil-13	■					■		■							■		■	1	1.88
Profil-14	■									■							■	1	1.88
Profil-15	■																■	1	1.88
Profil-16	■					■		■							■		■	1	1.88
Profil-17	■							■									■	1	1.88
Profil-18	■					■		■								■	■	1	1.88
Profil-19	■							■		■							■	1	1.88

Profil-1: Kp86, Kp89, Kp92, Kp95, Kp96, Kp102, Kp104, Kp107, Kp117, Kp124, Kp128, Kp138, Kp139, Kp140, Kp142, Kp143, Kp144, Kp154, Kp155, Kp168, Kp170 Profil-2: Kp120, Kp129, Kp151, Kp158, Kp163, Kp165, Kp172 Profil-3: KP75, KP84, KP87, KP88, Profil-4: KP126, KP132, KP137, Profil-5: KP69, KP73, Profil-6: KP111, KP149, Profil-7: KP133, KP145, Profil-8: KP71, Profil-9: KP80, Profil-10: KP109, Profil-11: KP113, Profil-12: KP78, Profil-13: KP150, Profil-14: KP127, Profil-15: KP115, Profil-16: KP156, Profil-17: KP157, Profil-18: KP153, Profil-19: KP79

4.4. KDKp İzolatlarında Sınıf-1 İntegron Gen Kasetlerinin Belirlenmesi

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında Sınıf-1 integron gen kasetleri varlığı incelendi. İntegronların 5'-CS ve 3'-CS bölgelerine spesifik primerler ile gerçekleştirilen PZR işlemi sonrasında gen ürünlerinin DNA dizin analizleri gerçekleştirildi. Belirlenen DNA sekansları GenBank veri tabanında var olan diğer sekanslar ile karşılaştırılarak Sınıf-1 integronlarda yer alan direnç genleri tespit edildi.

Çalışmamızda 53 izolatın 41'sinde (% 77.35) Sınıf-1 integron varlığı tespit edildi (Tablo 4.3). 41 izolatın integronların büyüklüğünün yaklaşık 1915 bp olduğu gözlemlendi. Yapılan DNA dizin analizleri izolatlardaki Sınıf-1 integronların trimethoprim antibiyotiğine direnç sağlayan *dfrA12* ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere direnç sağlayan *aadA2* direnç genlerini içerdiği tespit edildi. Ayrıca integron gen kasetleri içerisinde *orfF* hipotetik proteininde var olduğu tespit edildi (Şekil 4.1). Çalışmada tespit edilen Sınıf-1 integronlar INTEGRALL veri tabanı kullanılarak veri tabanında var olan diğer Sınıf-1 integronlar ile karşılaştırıldı ve sınıflandırıldı. Sınıflandırma sonucunda 41 izolatda bulunan Sınıf-1 integronlar In27 (*dfrA12-orfF-aadA2*) olarak isimlendirilmiştir.



Şekil 4.1. KDKp izolatlarında Sınıf-1 integron gen kasetlerinin şematik gösterimi

4.5. KDKp İzolatlarında Virülans Genlerinin ve Kapsül Serotipinin Belirlenmesi

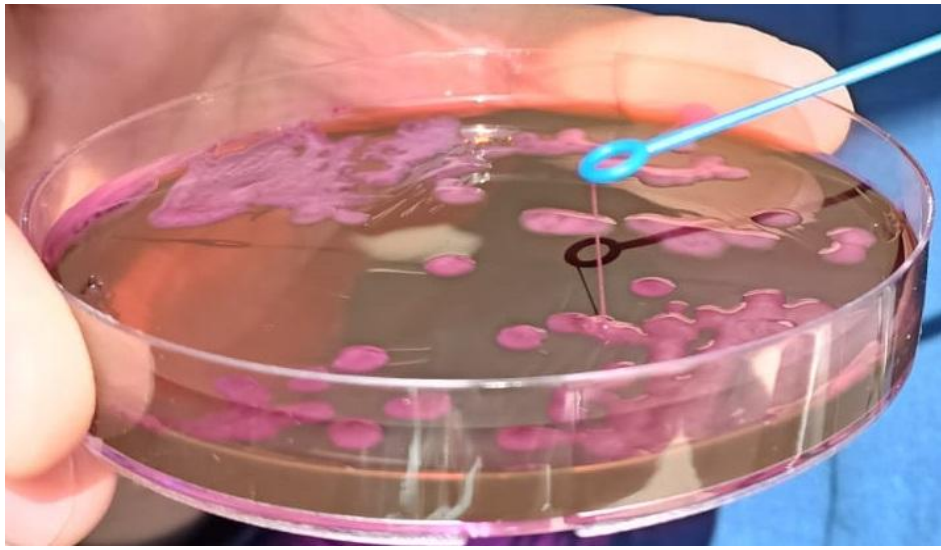
KDKp izolatlarında hipermukoviskozite ve 20 adet virülans gen varlığı (*rmpA*, *wcaG*, *uge*, *wabG*, *magA*, *ycfM*, *fimH*, *mrkD*, *kpn*, *alls*, *ureA*, *iutA*, *ybtA*, *entB*, *kfuBC*, *fepA*, *fyuA*, *iroD*, *iroN*, *CNF-1*) gerçekleştirilen bu tez çalışmasında tespit edildi.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında 53 KDKp arasında hvKP izolatlarını tanımlamak için virülans bir plazmit olan pLVPK-türevi lokuslarının (*iutA*, *rmpA*, *iroN*) varlığını kullanıldı. Bu 3 gen açısından pozitif olan izolatlar hipervirülant olarak değerlendirildi.

Gerçekleştirilen tez çalışması sonucunda 53 KDKp izolatının 32'si (% 60.37) *iutA*, *rmpA* ve *iroN* genlerini beraber içerdiği tespit edildi ve bu izolatlar hipervirülant olarak değerlendirildi. (Tablo 4.5).

4.5.1. Kapsül

String test ile gerçekleştirilen hipermukoviskozite özelliği incelendiğinde; 53 izolatın 5'inde (% 9.43) kolonilerin yaklaşık >5 mm uzayarak hipermukoviskozite özelliği gösterdiği tespit edildi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *K. pneumoniae* Kp78 izolatının string test görüntüsü

Virülans gen içeriğini belirlemek amacı ile yapılan PZR analizleri sonucunda 53 KDKp izolatının 55'inde (% 98.11) *rmpA*, 3'ünde (% 5.66) *magA* gen varlığı tespit edildi. izolatların hiçbirinde *wcaG* geni tespit edilemedi (Tablo 4.5).

4.5.2. LPS

Gerçekleştirilen PZR analizleri sonucunda izolatların tümünde (%100) LPS yapı ile ilgili olan *uge*, *ycfM* ve *wabG* genleri pozitif olarak bulundu (Tablo 4.5).

4.5.3. Fimbria

Yapılan virülans gen varlığı çalışmaları sonucunda 53 KDKp izolatlarının 48'i (% 90.56) *kpn* geni açısından pozitif olarak bulunurken, izolatların tümü (% 100) *fimH* ve *mrkD* genleri açısından pozitif tespit edildi (Tablo 4.5).

4.5.4. Siderofor

Gerçekleştirilen bu tez çalışması sonucunda 53 KDKp izolatının tümünün (% 100) aerobaktin sideroforu ile ilişkili olan *iutA* geni açısından pozitif olduğu tespit edildi. İzolatlar enterobaktin siderofu ile alakalı *entB* ve *fepA* geni açısından incelendi ve izolatların tümünün *entB*, 13'ünün (% 24.52) *fepA* geni açısından pozitif olduğu tespit edildi. İzolatların salmokein siderofu ile alakalı *iroN* ve *iroD* gen içeriği incelendi ve izolatların 32'si (% 60.37) ve 4'ü (% 7.54) sırasıyla *iroN* ve *iroD* genleri açısından pozitif olarak tespit edildi. İzolatların yersiniabaktin siderofu ile ilgili gen içeriği araştırıldığında; 53 izolatın 38'i (% 71.69) *ybtA* ve 33'ü (% 62.26) *fyuA* genleri açısından pozitif olarak tespit edildi. Ayrıca izolatlar hvKP suşlarında yaygın olarak bulunan ek demir taşıma sistemi ile alakalı *kfuBC* geni tarafından araştırıldı ve izolatların % 100 *kfuBC* geni açısından pozitif bulundu (Tablo 4.5).

4.5.5. Azot Kaynağı Kullanımı

Çalışmada izolatların tümü (% 100) nitrojen metabolizması ile alakalı *ureA* geni açısından pozitif olarak tespit edildi. Ayrıca 53 izolatın, 51'ü (% 96.22) allantoin mekanizması ile ilişkili olan *alls* geni içerdiği tespit edildi.

4.5.6. Kapsül Serotipi

KDKp izolatların kapsül serotipleri *wzi* geninin DNA dizinlerinin analiz edilmesi ile tespit edildi. Elde edilen DNA dizileri Pastör Enstitüsü Veri Bankasında bulunan diğer *wzi* gen bölgeleri ile karşılaştırılarak kapsül serotipleri belirlendi (URL-4) . Yapılan incelemede; 53 izolatın 45'i (% 84.90) alel 64'ü içerip *wzi64* (K14.64) kapsül serotipinde olduğu tespit edildi. İzolatların 3'ü (Kp78, Kp133, Kp137) (% 5.66) alel 137'i içerip *wzi137* (K17) kapsül serotipinde tespit edildi. İzolatların 2'si (Kp144, Kp145) (% 3.77) alel 39'u içerip *wzi39* (K39) kapsül serotipinde yine izolatların 2'si (Kp109, Kp113) (% 3.77) alel 19'u içerip *wzi19* (K.19) kapsül serotipinde olduğu tespit edildi. Çalışmada bir izolat ise (Kp158) (% 1.88) alel 50 olup *wzi50* (K.15.17.50.51.52) kapsül serotipinde olduğu tespit edildi (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. KDKp izolatlarının virülans gen profilleri ve kapsül genotipi

İzolatlar	Kapsül				LPS			Fimbria			Nitrojen Metabolizması		Siderofor						Toksin	hipervirülant özelliği	ST	Rep-PZR tiplendirmesi	wzi alel numarası- Kapsül Serotipi		
	<i>rmpA</i>	<i>magA</i>	<i>wcaG</i>	<i>hmKP</i>	<i>uge</i>	<i>wabG</i>	<i>ycfM</i>	<i>fimH</i>	<i>mrkD</i>	<i>kpn</i>	<i>alls</i>	<i>ureA</i>	<i>entB</i>	<i>fepA</i>	<i>iroD</i>	<i>iroN</i>	<i>ybtA</i>	<i>fyuA</i>	<i>iutA</i>					<i>kfuBC</i>	<i>CNF-1</i>
Kp69	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp71	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	147	Grup-3	wzi64- K14-K64
Kp73	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp75	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp78	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	101	Grup-3	wzi137- K17
Kp79	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp80	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp84	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp86	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp87	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp88	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp89	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp92	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp95	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp96	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp102	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	324	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp104	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp107	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	14	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp109	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2237	Grup-1	wzi19- K19

Tablo 4.5. (devam)

İzolatlar	Kapsül				LPS			Fimbria			Nitrojen Metabolizması			Siderofor				Toksin	hipervirülant özelliği	ST	Rep-PZR tiplendirme	wzi alel numarası- Kapsül Serotipi			
	<i>rmpA</i>	<i>magA</i>	<i>wcaG</i>	<i>hmKP</i>	<i>uge</i>	<i>wabG</i>	<i>ycfM</i>	<i>fimH</i>	<i>mrkD</i>	<i>kpn</i>	<i>alls</i>	<i>ureA</i>	<i>entB</i>	<i>fepA</i>	<i>iroD</i>	<i>iroN</i>	<i>ybtA</i>	<i>fyuA</i>					<i>iutA</i>	<i>kfuBC</i>	<i>CNF-1</i>
Kp111	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	14	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp113	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2237	Grup-1	<i>wzi19</i> - K19
Kp115	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp117	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	324	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp120	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	1561	Grup-1	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp124	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp126	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp127	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp128	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp129	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp132	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp133	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	101	Grup-3	<i>wzi137</i> - K17
Kp137	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	101	Grup-3	<i>wzi137</i> - K17
Kp138	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp139	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp140	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp142	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp143	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	2096	Grup-2	<i>wzi64</i> - K14-K64
Kp144	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	985	Grup-1	<i>wzi39</i> - K39

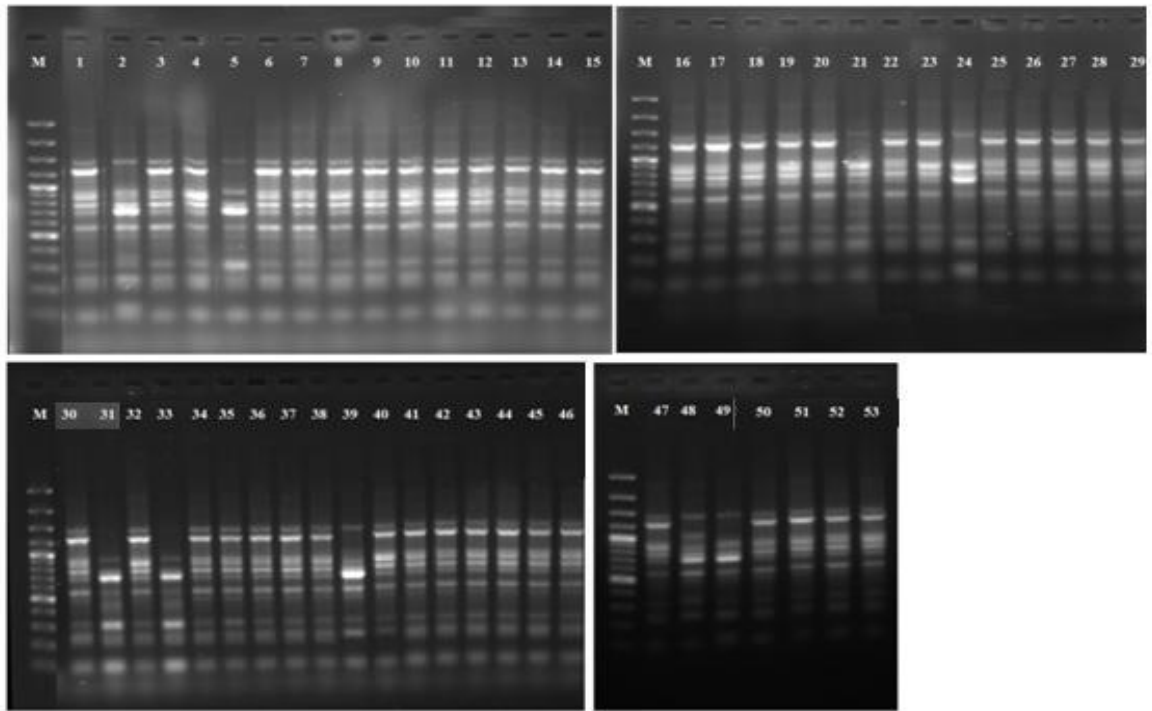
Tablo 4.5. (devam)

İzolatlar	Kapsül				LPS			Fimbria			Nitrojen Metabolizması			Siderofor				Toksin	hipervirülant özelliği	ST	Rep-PZR tiplendirmesi	wzi alel numarası- Kapsül Serotipi			
	<i>rmpA</i>	<i>magA</i>	<i>wcaG</i>	<i>hmKP</i>	<i>uge</i>	<i>wabG</i>	<i>ycfM</i>	<i>fimH</i>	<i>mrkD</i>	<i>kpn</i>	<i>alls</i>	<i>ureA</i>	<i>entB</i>	<i>fepA</i>	<i>iroD</i>	<i>iroN</i>	<i>ybtA</i>	<i>fyuA</i>					<i>iutA</i>	<i>kfuBC</i>	<i>CNF-1</i>
Kp145	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	985	Grup-1	wzi39- K39
Kp149	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp150	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp151	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp153	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp154	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp155	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp156	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp157	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp158	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	5405	Grup-4	wzi50- K15K17K50K51K52
Kp163	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	147	Grup-3	wzi64- K14-K64
Kp165	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp168	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp170	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64
Kp172	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	2096	Grup-2	wzi64- K14-K64

4.6. KDKp İzolatlarının Moleküler Epidemiyolojisi

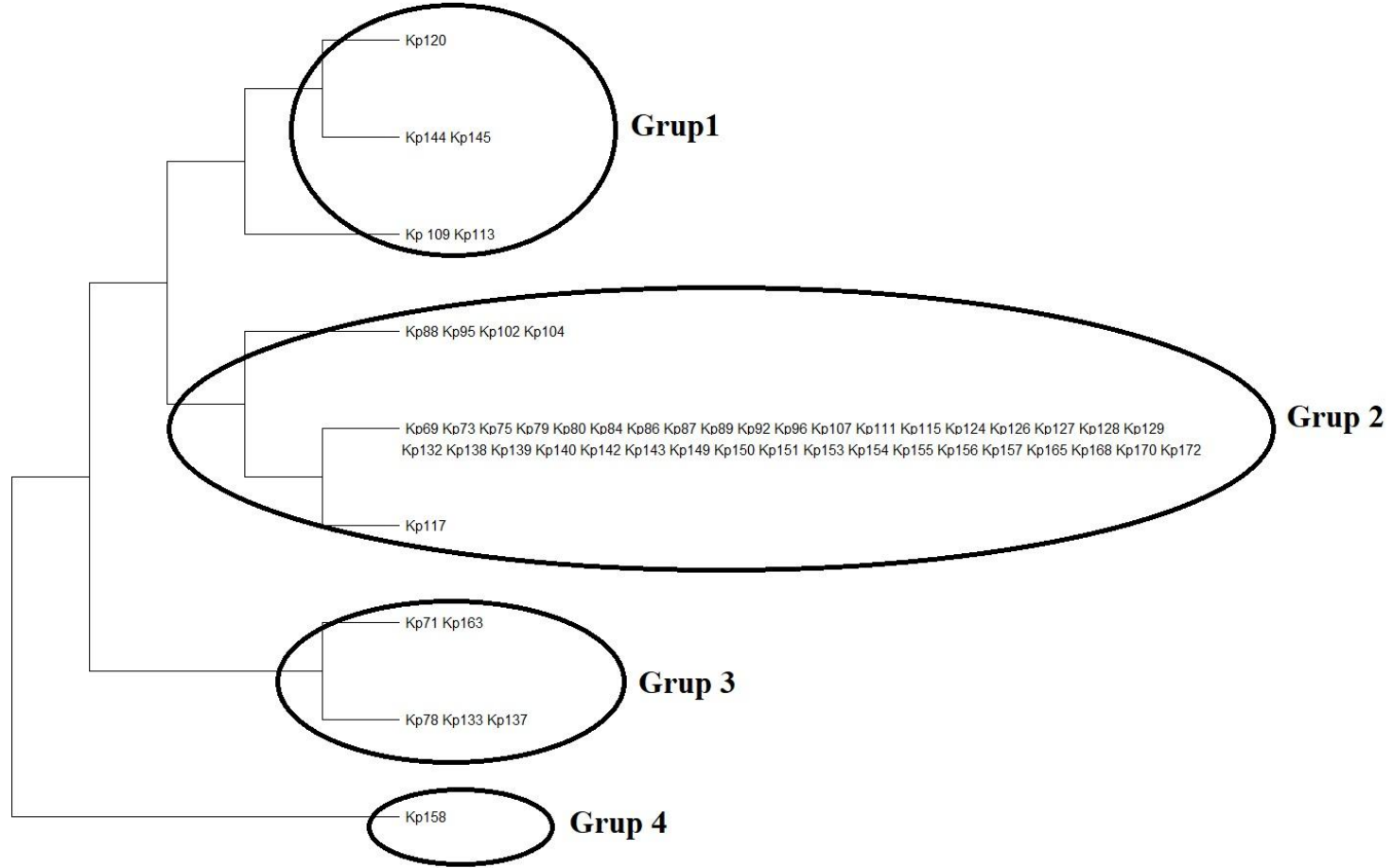
4.6.1. rep-PZR

Çalışmada kullanılan 53 KDKp izolatının moleküler epidemiyoloji çalışmalarında DNA parmak izi metotlarından biri olan rep-PZR metodu izolatların genotiplendirilmesinde kullanıldı. Gerçekleştirilen PZR işlemi sonucunda izolatlardan çoğaltılan bant profilleri Şekil 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.3. KDKp izolatlarında rep-PZR fragmentlerinin agaroz jel görüntüsü. M: 100 bp + DNA markır (ThermoFisherScientific), 1-Kp69, 2-Kp71, 3-Kp73, 4-Kp75, 5-Kp78, 6-Kp79, 7-Kp80, 8-Kp84, 9-Kp86, 10-Kp87, 11-Kp88, 12-Kp89, 13-Kp92, 14-Kp95, 15-Kp96, 16-Kp102, 17-Kp104, 18-Kp107, 19-Kp109, 20-Kp111, 21-Kp113, 22-Kp115, 23-Kp117, 24-Kp120, 25-Kp124, 26-Kp126, 27-Kp127, 28-Kp128, 29-Kp129, 30-Kp132, 31-Kp133, 32-Kp137, 33-Kp138, 34-Kp139, 35-Kp140, 36-Kp142, 37-Kp143, 38-Kp144, 39-Kp145, 40-Kp149, 41-Kp150, 42-Kp151, 43-Kp153, 44-Kp154, 45-Kp155, 46-Kp156, 47-Kp157, 48-Kp158, 49-Kp163, 50-Kp165, 51-Kp168, 52-Kp170, 53-Kp172

Agaroz jel elektroforezi sonucunda izolatların bant profilleri incelendi ve oluşturulan matrikste bantlar var-yok şeklinde sınıflandırıldı. Oluşturulan matriks Mega X. programında işlendi ve dendogram oluşturuldu. Oluşturulan dendograma göre 4 ana grubun olduğu gözlemlendi. İzolatların 42’si (% 79.24) gibi büyük bir çoğunluğu Grup-2’de kümelendi. Bunu 5 izolat (% 9.43) ile Grup-1 ve Grup-3, 1 izolat (% 1.88) ile Grup-4 takip etti (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. KDKp izolatlarının rep-PZR profilleri

4.6.2. Multi-Lokus Sekans Tipleri (MLST) Analizleri

KDKp izolatlarının MLST analizleri PubMLST web sitesinde belirtilen 7 adet temel (housekeeping) genin (*rpoB*, *pgi*, *mdh*, *infB*, *gapA*, *tonB* ve *phoE*) sekans analizlerinin incelenmesi sonucu gerçekleştirildi. Sekans analizlerine göre PubMLST veri bankasından genlerin alel profilleri çıkarıldı. Herbir izolatın gen alelleri data bankasına girilerek var olan ST tipleri ile karşılaştırılarak, ST tipleri belirlendi.

KDKp 53 izolatın *gapA* geninin sekans analizleri incelendiğinde; izolatların 44'ünde (% 83.01) alel 1, 4'ünde (% 7.54) alel 2, 3'ünde (% 5.66) alel 3 ve 2'sinde (% 3.77) alel 10 tespit edildi (Tablo 4.6).

KDKp 53 izolatın *infB* geninin sekans analizleri incelendiğinde; izolatların 45'inde (% 84.9) alel 6, 3'ünde (% 5.66) alel 1 ve 4, 2'sinde (% 5.66) alel 3 tespit edildi (Tablo 4.6).

KDKp 53 izolatın *mdh* geninin sekans analizleri incelendiğinde; izolatların 47'sinde (% 88.67) alel 1, 3'ünde (% 5.66) alel 6 ve 2 tespit edildi (Tablo 4.6).

KDKp 53 izolatın *pgi* geninde sekans analizleri incelendiğinde; izolatların 48'inde (% 90.56) alel 1, 3'ünde (% 5.66) alel 5 ve 2'sinde (% 3.77) alel 2 tespit edildi (Tablo 4.6).

KDKp 53 izolatın *phoE* geninde sekans analizleri incelendiğinde; izolatların 45'inde (% 84.90) alel 1, 3'ünde (% 5.66) alel 4 ve 7, 2'sinde (% 3.77) alel 6 tespit edildi (Tablo 4.6).

KDKp 53 izolatın *rpoB* geninde sekans analizleri incelendiğinde; izolatların 40'inde (% 75.47) alel 46, 7'sinde (% 13.20) alel 4 ve 6'sında (% 11.32) alel 1 tespit edildi (Tablo 4.6).

KDKp 53 izolatın *tonB* geninde sekans analizleri incelendiğinde; izolatların 44'ünde (% 83.01) alel 1, 3'ünde (% 5) alel 6, 4 ve 38 tespit edildi (Tablo 4.6).

İzolatların belirlenen alel profilleri sonucunda atanan ST tipleri incelendiğinde; en baskın ST tipinin 53 izolattan 38'inde (% 71.69) belirlenen ST2096 olduğu tespit edildi. Bu ST tipini 3 izolatta (%5.66) tespit edilen ST101, 2'ser (%3.77) izolatta tespit edilen ST14, ST147, ST324, ST985, ST2237 ve 1'er (%1,88) izolatta tespit edilen ST1561, ST5405 tipleri takip etmektedir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. KDKp izolatlarının Multi Lokus Sekans Tipleri (MLST)

	izolatlar	gapA	infB	mdh	pgi	phoE	rpoB	tonB	STs	rep-PZR tipi
1	Kp69	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
2	Kp71	3	4	6	1	7	4	38	147	Grup-3
3	Kp73	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
4	Kp75	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
5	Kp78	2	6	1	5	4	1	6	101	Grup-3
6	Kp79	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
7	Kp80	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
8	Kp84	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
9	Kp86	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
10	Kp87	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
11	Kp88	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
12	Kp89	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
13	Kp92	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
14	Kp95	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
15	Kp96	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
16	Kp102	1	6	1	1	1	4	1	324	Grup-2
17	Kp104	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
18	Kp107	1	6	1	1	1	1	1	14	Grup-2
19	Kp109	1	1	1	1	1	46	1	2237	Grup-1
20	Kp111	1	6	1	1	1	1	1	14	Grup-2
21	Kp113	1	1	1	1	1	46	1	2237	Grup-1
22	Kp115	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
23	Kp117	1	6	1	1	1	4	1	324	Grup-2
24	Kp120	3	4	6	1	7	1	38	1561	Grup-1
25	Kp124	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
26	Kp126	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
27	Kp127	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
28	Kp128	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
29	Kp129	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
30	Kp132	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
31	Kp133	2	6	1	5	4	1	6	101	Grup-3
32	Kp137	2	6	1	5	4	1	6	101	Grup-3
33	Kp138	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
34	Kp139	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
35	Kp140	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
36	Kp142	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
37	Kp143	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
38	Kp144	10	3	2	2	6	4	4	985	Grup-1
39	Kp145	10	3	2	2	6	4	4	985	Grup-1
40	Kp149	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2

Tablo 4.6. (devam)

	izolatlar	gapA	infB	mdh	pgi	phoE	rpoB	tonB	STs	rep-PZR tipi
41	Kp150	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
42	Kp151	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
43	Kp153	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
44	Kp154	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
45	Kp155	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
46	Kp156	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
47	Kp157	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
48	Kp158	2	1	2	1	1	4	4	5405	Grup-4
49	Kp163	3	4	6	1	7	4	38	147	Grup-3
50	Kp165	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
51	Kp168	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
52	Kp170	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2
53	Kp172	1	6	1	1	1	46	1	2096	Grup-2

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

K. pneumoniae toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojendir. Normalde *K. pneumoniae* insanlarda deride, orofarinkste veya gastrointestinal sistemde kolonize olur. Özellikle bağışıklığı baskılanmış veya diyabetes mellitus gibi altta yatan hastalık durumlarından muzdarip olan kişilerde pnömoni, bakteriyemi, süpüratif enfeksiyonlar, idrar yolu enfeksiyonları, kolanjit ve nadiren osteomyelit veya menenjit gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olur. *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının klinik spektrumundaki varyasyonlar, kısmen antimikrobiyal duyarlılık profiline ve buna ek olarak virülans faktörlerine sahip olmalarına veya bu faktörlerin ekspresyonuna bağlanabilir (Remya ve diğ., 2019). *K. pneumoniae* hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen *Enterobacteriaceae* ailesi üyesidir. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında; Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde yatan hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının epidemiyolojik tiplendirmeleri, virülans genleri ve karbapenem direncinin moleküler karakterizasyonu gerçekleştirildi.

2017'de Dünya Sağlık Örgütü, acil olarak bazı bakterilere karşı yeni antibiyotikler geliştirmesi gerektiğini duyurdu ve antibiyotiğe dirençli bakterilerin bir listesini yayınladı. Bu liste, yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulan aciliyete bağlı olarak üç kategoriye ayrıldı: kritik, yüksek ve orta öncelik. Kritik kategori içerisinde karbapenem ve 3. nesil sefalosporin dirençli *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri bulunur. Bu bakteriler, kan dolaşımı enfeksiyonları, zatürre, komplike idrar yolu enfeksiyonları ve komplike intra-abdominal enfeksiyonlar gibi ciddi enfeksiyonlara neden olan yaygın patojenlerdir (Suay-Garcia ve Perez-Gracia, 2019). Hem hastane hem de toplum kaynaklı enfeksiyonların önemli bir nedeni olan karbapenem dirençli *K. pneumoniae* bu listede kritik kategoride listelenmektedir (David ve diğ., 2019). Karbapenemler, son derece güçlü bir antibakteriyel etki ile bugüne kadarki en geniş aktivite spektrumuna sahip antibiyotik sınıfıdır (Jin ve diğ., 2020). Bu durumda hastane kaynaklı enfeksiyonlarda sıklıkla izole edilen *K. pneumoniae*'lerde karbapenem direncinin saptanması enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde çok tehlikeli bir durumu işaret etmektedir. Bu nedenle hastane kaynaklı *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem dirençli izolatların tespit edilmesi, dirence neden

olan genlerin belirlenmesi ve bu direnç genlerinin taşıyan izolatların epidemiyolojik olarak yayılımlarının tespit edilmesi dirençle mücadele etmek için çok önemlidir ve bu tez çalışmamızda bunu başarmayı amaçlamaktadır.

GSBL'lar penicilinler, birinci, ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinler ve monobaktamlara direnç sağlayan β -laktam antibiyotiklerinin β -laktam halkasını hidroliz eden enzimlerdir. GSBL enzimleri yaygın olarak farklı ve aynı tür bakteriler arasında horizontal yayılıma neden olan konjugatif plazmitler üzerinde bulunan *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} ve *bla*_{CTX-M} genleri tarafından kodlanır (Silago ve diğ., 2021). 1980'lerde en yaygın GSBL'ler TEM ve SHV iken, 21. yüzyılın başından beri CTX-M tipleri daha baskın hale gelmiştir. Günümüze kadar genişlemiş spektruma sahip birçok beta-laktamaz genlerinin varlığı tespit edilmiş olup, *bla*_{OXA}, *bla*_{PER}, *bla*_{GES} ve *bla*_{VEB} bunlara örnektir (Girlich ve diğ., 2020). Çalışmamızda 53 *K. pneumoniae* izolatında GSBL enzimlerinin üretimini sağlayan *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-2}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{PER-1}, *bla*_{GES} ve *bla*_{VEB} genlerinin varlığı araştırıldı. Çalışmamızın sonucunda en yaygın GSBL genotipleri % 100 *bla*_{CTX-M-1}, % 93 *bla*_{TEM} ve % 89 *bla*_{SHV} ve *bla*_{OXA-1} genleri olarak tespit edildi. Bunun yanısıra daha düşük prevalansta % 20 *bla*_{CTX-M-2} ve % 4 *bla*_{VEB} genleri tespit edilirken *bla*_{GES} ve *bla*_{PER-1} genleri hiçbir izolatta tespit edilemedi.

Bektaş ve diğ. (2018) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Ocak 2008-Ekim 2012 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve fenotipik olarak GSBL ürettiği saptanan 100 *E. coli* ve 100 *K. pneumoniae* suşunda CTX-M, TEM, SHV, VEB, GES, PER ve OXA tipi β -laktamazlar polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırıldı. *K. pneumoniae* suşlarında β -laktamazlar sırasıyla; CTX-M % 99, SHV % 91, TEM % 71, OXA-10 grup % 10 ve OXA-2 grup % 5 oranında pozitif bulundu. GES, VEB ve PER türü β -laktamaz genleri ise hiçbir suşta saptanmadı. Obalı (2020) tarafından gerçekleştirilen bir tez çalışmasında Konya ili hastanelerindeki klinik örneklerden izole edilen 192 *K. pneumoniae* izolatında GSBL üretimi genotipik olarak araştırıldı. Çalışmanın sonucunda izolatların % 96.87'si genotipik olarak GSBL pozitif olarak belirlendi. İzolatlarda *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA} ve *bla*_{CTX-M} geni içeriği sırasıyla % 95.83, % 49.47, % 45.31 ve % 14.06 olarak tespit edildi. Deniz ve diğ. (2021) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise Kars Harakani Devlet Hastanesine idrar yolları yakınması ile başvuran bireylere ait idrar örneklerinden izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşları arasında GSBL enzim üreten suşların moleküler yöntemlerle araştırılması gerçekleştirildi. Çalışmada 14 GSBL pozitif

K. pneumoniae izolatu elde edildi ve izolatlarda *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} ve *bla*_{CTX-M} genlerinin varlığı araştırıldı. Yapılan bu çalışması sonucunda izolatlarda % 64.29, % 50 ve % 42.86 oranında sırasıyla *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM} genlerinin varlığı tespit edildi. Gerçekleştirilen çalışmalar göstermektedir ki; GSBL enzim üretiminde TEM, SHV ve CTX-M tipi β -laktamazlar oransal olarak bir birine yakındır ve aralarında çalışmalara göre farklılıklar olsada ülkemizde de en yaygın olan GSBL enzimleridirler. Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasıda ülkemiz literatüründeki veriler ile uygunluk göstermektedir.

Dünyada yapılan benzer çalışmalara bakıldığında; 2018-2020 yılları arasında İran'da gerçekleştirilen bir çalışmada karbapenem dirençli 100 *K. pneumoniae* izolatında karbapenemaz, GSBL ve *pAmpC* genleri araştırıldı. Çalışmanın sonucunda 100 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatının 6'sında (% 6) *bla*_{SHV}, 39'unda(% 39) *bla*_{TEM} ve 48'inde (% 48) *bla*_{CTX-M} genlerinin varlığı tespit edildi (Babazadeh ve diğ., 2022). Bir diğer çalışma ise Eylül-Aralık 2014 tarihleri arasında Malezya hastanelerinden izole edilen *K. pneumoniae* izolatları üzerine gerçekleştirildi. *K. pneumoniae* izolatlarınının 31'i çoklu ilaç direncine sahip olduğu ve bunlardan 27'sinin fenotipik olarak GSBL üreticisi olduğu tespit edildi. Gerçekleştirilen PZR çalışmaları sonucunda 31 izolatın 26'sının *bla*_{TEM}, 24'ünün *bla*_{SHV} ve 23'ünün *bla*_{CTX-M1} β -laktamaz genlerine sahip olduğu tespit edildi (Mobasseri ve diğ., 2020). Ekim 2014- Mart 2015 tarihleri arasında İtalya'da gerçekleştirilen bir diğer çalışmada; uzun süreli bakım evlerinde (Long-term care facilities) ikamet eden yaşlılardan alınan idrar ve gaita örneklerinde 52 *K. pneumoniae* izole edildi ve GSBL içerikleri araştırıldı. Gerçekleştirilen çalışmada 52 izolatın 22'sinin çoklu ilaç direncine sahip olduğu tespit edildi. Yapılan PZR çalışması sonucunda 22 izolatın 19'unun (% 86.4) CTX-M, 2'sinin (% 9.1) TEM, 1'inin (% 4.5) SHV tipi GSBL içerdiği tespit edildi (Giufre ve diğ., 2018). Ferreira ve diğ. (2019) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Ocak 2014- Mayıs 2015 tarihleri arasında Brezilya'da üçüncü basamak bir hastanenin yoğun bakım servisinden izole edilen 25 *K. pneumoniae* izolatının β -laktamaz kodlayan genleri araştırıldı. Çalışmada 25 izolatın 21'i çoklu ilaç direncine sahip olduğu belirlendi. Bu 25 izolat üzerine gerçekleştirilen PZR çalışmaları sonucunda % 100'ünün TEM, % 96'sının SHV, % 84'ünün OXA-1 ve % 72'sinin CTX-M1 tipi GSBL içerdiği tespit edildi. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde gerçekleştirilen bu tez çalışmasına benzer şekilde en yaygın GSBL'in TEM, SHV, CTX-M tipi β -laktamazlar olduğu görülmektedir.

GSBL'ler, sefamisinleri (örn., sefoksitin ve sefotetan) ve karbapenemleri (örn., imipenem ve meropenem) hidrolize etmede etkili değildir. Bu nedenle bu antibiyotik ajanlar, özellikle de karbapenemler, GSBL üreticilerine bağlı enfeksiyonların tedavisi için önerilirler (Silago ve diğ., 2021). Karbapenemler, son derece güçlü bir antibakteriyel etki ile bugüne kadarki en geniş aktivite spektrumuna sahip antibiyotik sınıfıdır (Jin vd., 2020). Karbapenemler, antibiyotiğe dirençli mikrobiyal enfeksiyonların önündeki son engeldir. Karbapenemler çoklu ilaç direncine sahip, GSBL enzimi üretebilen veya muhtemelen *AmpC* tip β -laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* üyeleri tarafından tetiklenen ciddi hastane kaynaklı enfeksiyonları tedavi etmek için mevcut en etkili terapötik seçeneklerdir (Ebomah ve Okoh, 2020). Özellikle nozokomiyal enfeksiyonlarda bakterilere yönelik karbapenem antibiyotiklerinin sıklıkla kullanımı karbapenem dirençli bakterilerin ortaya çıkması gibi daha endişe verici bir soruna yol açmıştır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çok ciddi bir sorun olan karbapenem direnci gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasının ana amacıdır. Bu tezden elde edilen veriler ile Kırşehir İli için ilk olarak karbapenem direncinin moleküler seviyede araştırılması gerçekleştirilmiştir.

Enterobacteriaceae ailesi üyelerinin karbapenemlere dirençli hale geldiği üç ana mekanizma vardır: enzim üretimi, efluks pompaları ve porin mutasyonları. Bunlardan enzim üretimi ana direnç mekanizmasıdır. KPC, VIM, IMP, NDM ve OXA-tip karbapenemazlar klinikte en önemli enzimlerdir (Suay-Garcia ve Perez-Gracia, 2019). Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında da klinik olarak çok önemli olan KPC, NDM-1, VIM, IMP ve OXA-48 tip karbapenemazlar 53 *K. pneumoniae* izolatında incelendi.

Çalışmamızda KPC tipi karbapenemaz üretimi incelendiğinde hiçbir izolatta *bla*_{KPC} geninin varlığı tespit edilemedi. Literatürde *K. pneumoniae* ve diğer *Enterobacteriaceae*'de kapsamlı bir şekilde araştırılan KPC tipi karbapenemazların Amerika Birleşik Devletleri'nde yaygın olan karbapenemaz tipi olduğu görülmektedir. Ancak Yunanistan ve İtalya gibi bazı Avrupa ülkelerinde de endemiktir. Fakat Türkiye için bakıldığında enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *K. pneumoniae* ve *Enterobacteriaceae* üyelerinde KPC tipi karbapenemaz tespiti sporadik bir yayılma gösterir (Munoz-Price ve diğ., 2013). Literatür incelendiğinde ülkemizde yapılan çalışmalarda KPC tipi karbapenemaz enzimlerinin varlığı tespit edilemezken, son yıllardan itibaren birkaç yayında KPC tipi karbapenemazların varlığı yayınlanmaya başlamıştır (Genç ve diğ., 2022; Ergen ve diğ., 2022; İşler ve diğ., 2022).

Alp diğ. (2013) Türkiye’de üçüncü basamak bir üniversite hastanesinde yaptığı bir çalışmada 137 hastadan KDKp izole ettiler. PZR yardımıyla karbapenamaz kodlayan genlere bakıldığında, 94 *K. pneumoniae* izolatının % 91.5 OXA-48, % 4.3 NDM-1 ve % 3.2 IMP tipi karbapenamaz yönünden pozitif bulundu. Iraz ve diğ. (2015) Türkiye’de Bezmialem Vakıf Üniversitesinde Temmuz 2012 ile Mart 2013 tarihleri arasında topladığı 37 *K. pneumoniae* izolatında karbapenamaz varlığını araştırdı. % 86 OXA-48, % 19 NDM-1 pozitif bulundu ve hiçbir izolatta IMP enzimine rastlamadı. Ulu ve diğ. (2017) tarafından gerçekleştirilen çalışmada 2013-2014 dönemlerinde, Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi’ndeki hastalardan izole edilen karbapenemlere dirençli 98 *K. pneumoniae* izolatı karbapenamaz varlığı PZR ile tarandı. Çalışmada % 74.5 OXA-48, % 45.9 VIM ve % 20.4 NDM-1 karbapenamaz saptandı. Türkiyede Üçüncü Basamak bir referans hastaneden izole edilen karbapenem antibiyotiklerine dirençli 86 *K. pneumoniae* izolatı karbapenamaz varlığı yönünden PZR ile tarandı. İzolatların % 75.36’sı OXA-48, % 7.25’i NDM-1 ve % 1.45’i VIM pozitif olarak belirlendi. (Baran ve diğ., 2016). Gelemmez ve diğ. (2019) gerçekleştirdikleri çalışmada Haziran- Aralık 2017 tarihleri arasında erişkin yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan rektal sürüntü örnekleri topladılar. Toplanan izolatlar VITEK2 otomatize sistemi ile *K. pneumoniae* olarak tanımlandı. Karbapenem direnç genlerinin (OXA-48, IMP, VIM, KPC, NDM) varlığı spesifik primerler kullanılarak PZR yöntemi ile araştırıldı. Çalışmanın sonucunda izolatların % 27.5’i OXA-48, % 19.6’sı NDM geni içerdiği tespit edildi. Aynı zamanda izolatların % 39.2’si OXA-48 ve NDM genlerini beraber taşıdığı belirlendi. Çalışmada ayrıca izolatların % 5.9’unun KPC geni içerdiği ve % 7.8’inin KPC+NDM direnç genlerini beraber taşıdığı belirlendi. Hazırolan ve Karagöz, (2020) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise 2017-2019 tarihleri arasında karbapenem dirençli klinik 93 *K. pneumoniae* izolatında karbapenem direnç genlerinin (OXA-48, IMP, VIM, KPC, NDM) varlığı spesifik primerler kullanılarak PCR yöntemi ile araştırıldı. Yapılan çalışma sonucunda tüm izolatların (%100) OXA-48 geni taşıdığı tespit edildi. Ayrıca 2 izolatda OXA-48+NDM direnç genlerinin beraber bulunduğu tespit edildi. Hosbul ve diğ. (2021) klinik 38 *K. pneumoniae* izolatında karbapenem direnç genlerini (OXA-48, IMP, VIM, KPC, NDM) PZR yardımı ile araştırdı. Gerçekleştirilen bu çalışmanın sonucunda izolatların % 58’i OXA-48, %5’i NDM direnç geni taşıdığı tespit edildi. Ayrıca izolatların %34’ü OXA-48+NDM direnç genlerini beraber taşıdığı tespit edildi. İzolatların hiçbirinde KPC, IMP ve VIM karbapenem direnç geni tespit edilemedi. Genç ve diğ. (2022) yaptıkları bir diğer çalışmada klinik 100 *K.*

pneumoniae izolatında karbapenem direnç genlerini (OXA-48, IMP, VIM, KPC, NDM) PZR yardımı ile araştırdı. Çalışma sonucunda izolatların % 81.05'inin OXA-48, % 38.9'unun NDM, % 9.47'sinin KPC ve % 1.05'inin VIM tipi karbapenem direnç geni taşıdığını tespit edildi. Ayrıca izolatlardan birinin OXA-48+KPC, ikisinin ise KPC+NDM direnç genlerini beraber taşıdığını belirledi.

Gerçekleştirilen bu çalışmada NDM-1 pozitif 53 izolatın 40'ının (% 71.42) *bla*_{OXA-48} pozitif olduğu tespit edildi. Hiçbir izolat da KPC, VIM ve IMP tipi beta-laktamaz belirlenemedi. Çalışmada 40 *K. pneumoniae* izolatında NDM-1 ve OXA-48 tipi karbapenemazın birlikte bulunduğu tespit edildi.

Türkiye'de endemik olan *bla*_{OXA-48} pozitif izolatlarının yanı sıra *bla*_{NDM}'nin izole edildiği bilinen bir gerçektir. Pozitif izolatların endemik seviyelere ulaşmaya başlaması ve neden oldukları enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibiyotiklerin giderek sınırlı hale gelmesi bu durumun önüne geçebilmeyi oldukça zorlaştırmıştır. Mevcut katı enfeksiyon kontrol önlemlerinin yanı sıra yoğun bakım ünitesi gibi riskli bölümlerde *K. pneumoniae* enfeksiyon yönetimi için tarama testlerinin yapılması ve gerekli enfeksiyon kontrol sisteminin sıkı bir şekilde uygulanması gerekmektedir (Genç ve diğ., 2022).

K. pneumoniae'de tanımlanan MBL'lar esas olarak Japonya (IMP), Tayvan (IMP), Hindistan alt kıtası (NDM), Balkan ülkeleri (NDM) ve Yunanistan'dan (VIM) bildirilmiştir. Son bulgular, Balkan devletlerinin ve Orta Doğu'nun NDM-1 üreticilerinin ikincil rezervuarları olarak hareket edebileceğini göstermektedir. Avrupa Karbapenemaz Üreten Enterobacteriaceae (EuSCAPE) araştırmasında, Türkiye NDM karbapenemazların varlığı açısından 1-5 (1: rapor edilen vaka yok; 5: endemik durum) ölçeğinde evre 3 ülke olarak sınıflandırılmıştır. Gelecekte *K.pneumoniae* ile olası bir salgın ortaya çıkabilir. Bu nedenle karbapenemaz üreten dirençli mikroorganizmaların erken teşhisi salgınların önlenmesinde önemli bir role sahiptir (Hazırolan ve Karagöz, 2020).

Antibiyotiklerin yaygın kullanımı özellikle *Enterobacteriaceae* familyasındaki bakteriyel patojenlerde ilaç direncinin hızlı artışına katkıda bulunmuştur. Bu hızlı artışa bakteriyel patojenlerin sahip olduğu plazmitler, transpozonlar ve integronlar aracılık eder ve direnç determinantlarının bu patojenler arasında transferini sağlarlar. İntegronlar, bir DNA molekülünden diğerine, homolog olmayan bölgelere entegre olmak suretiyle transloke olabilen (yer değiştirebilen) DNA elementleridir. İntegronların genetik organizasyonu,

farklı gen kaset kombinasyonları ile oldukça çeşitli olabilir. Her biri ayrı bir integras genini kodlayan 5 farklı integron sınıfı vardır. Sınıf-1 integronlar, *Enterobacteriaceae*'nin klinik izolatlarında bulunan en yaygın integron türüdür. Sınıf-1 integronlar Tn21 gibi transpozonlar üzerinde tespit edilmişlerdir ve prototip sayılırlar. Sınıf-1 integronun yapısında bir 5'- ve 3'- korunmuş segment (5'-CS ve 3'-CS) ve bir de değişken bölge vardır. 5'-CS, *intI* geni (integrasyon) ve eklenen gen(ler)in ekspresyonu için kullanılan bir promotör bölge içerirken, 3'-CS defektif kuaterner amonyum direnç geni *qacEΔ1* ve sülfonamide direnç sağlayan *sulI* geni içerir. İki korunmuş bölge arasında bulunan değişken bölge, antibiyotik direnç gen kasetlerinin girmesi için rekombinasyon yeridir. *Enterobacteriaceae*'de Sınıf-1 integronlar içinde en sık tanımlanan gen kasetleri, streptomisin (*aadA*) ve trimetoprim'e (*dfrA*) direnci kodlayanlardır. Bunun yanısıra aminoglikozitler, β-laktamlar, kloramfenikol, trimetoprim, eritromisin ve rifampisin gibi farklı antibiyotik ailelerine direnç kazandıran 130'dan fazla farklı gen kaseti tanımlanmıştır (Levesque ve diğ., 1995; Schmitz, 1999; Bennett, 1999; Li ve diğ., 2013). Çalışmamızda 53 *K. pneumoniae* izolatının 41 (% 73.2)'inde Sınıf-1 integron varlığı tespit edildi. İntegronların gen içerikleri incelendiğinde tüm izolatların integron In27 (*aadA2-orfF-dfrA12*) sınıfında olduğu tespit edildi. *Klebsiella spp.*'deki Sınıf 1 integronlar. geniş çapta incelenmiştir ve çeşitli tipte gen kasetleri taşıdığı bulunmuştur. Yapılan çalışmalar en yaygın direnç genlerinin *aadA* ve *dfrA* ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Ancak *dfrA1-orfC* ve *dfrA12-orfF-aadA2* gibi gen kaseti profilleride birçok *Klebsiella spp.* izolatında tespit edilmiştir (Li ve diğ., 2013; Fursova ve diğ., 2015).

Singha ve diğ. (2015) yaptıkları çalışmada, Mart 2013-Şubat-2014 tarihleri arasında Hindistan'ın Silchar Tıp Fakültesi Hastanesinin çeşitli kliniklerine başvuran hastalardan 71 *K. pneumoniae* izole ettiler. Gerçekleştirilen çalışma sırasında *K. pneumoniae* izolatlarının 44'ünün Sınıf-1 integron taşıdığı tespit edildi. İntegron gen kasetleri incelendiğinde 5 farklı profile sahip oldukları ve bu profillerden birininde *dfrA12-orfF-aadA2* olduğu tespit edildi. Lev ve diğ. (2018) Rusya'da yaptıkları bir diğer çalışmada ise Burdenko Beyin Cerrahisi Enstitüsü ve Moskova Enfeksiyon Hastanesine başvuran hastaların çeşitli klinik örneklerinden 148 *K. pneumoniae* izole edildi. İzolatların % 38'i Sınıf-1 integron varlığı bakımından pozitif bulundu. Sınıf-1 integron gen içerikleri incelendiğinde izolatların 6 farklı gen profiline sahip olduğu ve *dfrA12-orfF-aadA2* profilinin bu profillerden biri olduğu tespit edildi. Literatür incelendiğinde, Sınıf-1 integron içeren *K. pneumoniae*

izolatlarında *dfrA12-orfF-aadA2* gen profilinin Rusya, Çin, Hindistan, Uruguay, İran, Güney Afrika gibi dünyanın birçok yerinde yaygın olarak tespit edildiği görülmektedir (Wu ve diğ., 2012; Li ve diğ., 2013; Firoozeh ve diğ., 2019; Papa-Ezdra ve diğ., 2021; Madni ve diğ., 2021) .

Virülans, bir mikroorganizmanın konağı enfekte etme ve bir hastalığa neden olma yeteneği olarak tanımlanır. Virülans faktörleri, bakterinin konağı enfekte etmesine yardımcı olan moleküllerdir. *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının klinik özelliklerindeki farklılıklar virülans faktörlerinin nitelikleri ve sayıları ile ilişkilidir. *K. pneumoniae*'nin virülansında rol oynayan faktörler arasında kapsüler polisakkaritler, lipopolisakkaritler, fimbrial adezinler, hipermukoviskozite, toksinler ve sideroforlar yer alır (Serbest, 2022).

K. pneumoniae, sıklıkla pnömoni, menenjit, kan dolaşımı ve idrar yolu enfeksiyonu gibi nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan yaygın fırsatçı bir patojendir. Ayrıca *K. pneumoniae*, sağlıklı bireylerde karaciğer absesi, endoftalmi ve menenjit gibi toplumla ilişkili enfeksiyonlara neden olma potansiyeline sahiptir. Endoftalmi ile birlikte karaciğer absesine neden olan benzersiz bir *K. pneumoniae* vakası ilk kez 1980'lerde Tayvan'da rapor edildi ve etken organizma hipervirulent *K. pneumoniae* (hvKP) olarak tanımlandı. O zamandan beri hvKP, klasik *K. pneumoniae*'ye (kKP) ek olarak hipervirülans nedeniyle yüksek patojenite ve mortalite ile ilişkili dolaşımdaki başka bir patotip olarak kabul edilmiştir (Zhu ve diğ., 2021). Özellikle kKP'lerde nadiren gözükten hipermukoviskozite fenotipi hvKP varyantlarında sıklıkla tanımlanmış ve bu varyantlar hipervirülans ile ilişkilendirilmiştir. İlk başta mukus koloniler üretmeleri ile karakterize edilen K1 ve K2 kapsüler serotipleri insanlar için oldukça patojenik olarak tanımlandı ve hipervirülans klonlar daha sık olarak bu fenotiple ilişkilendirildiler. *K. pneumoniae*'nin neden olduğu ilk invaziv enfeksiyon vakaları bildirildikten sonra, hipermukoviskoz fenotip, hipervirülansın bir belirteci olarak kabul edildi. Bununla birlikte "hipermukoviskoz fenotip, hipervirülansın bir göstergesi midir?" sorusu hala net olarak açıklığa kavuşturulmamış bir sorudur. (Catalan-Najera ve diğ., 2017).

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında hipermukoviskozite özelliği string test ile tespit edilmiştir. Sonuçlar 53 KDKp izolatının 5'inin (% 9.43) hipermukoviskoz fenotipe sahip olduğunu göstermiştir. Zhan ve diğ. (2017) gerçekleştirdikleri çalışmada 140 KDKp izolatları arasında 21'inin string test sonuçlarının pozitif olduğunu tespit etmişlerdir ve

izolatların % 15 oranı ile hipervirülant olduklarını söylemişlerdir. Zhou ve diğ. (2021) yaptıkları bir diğer çalışmada 1081 *K. pneumoniae* izolatının 341'ini (% 31.5) karbapenem dirençli olarak tespit etmişlerdir. Hipermukoviskozite özelliğini string test ile incelenmişler ve KDKp izolatlarının 39'unun (% 11.4) hipermukoviskoz fenotipe sahip olduğunu belirlemişlerdir. Literatür sonuçları incelendiğinde karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatları arasında string test ile hipermukoviskozite fenotipini belirlenmesi sonuçları bu tez çalışması ile uyumludur.

Hipermukoviskozite hipervirülansı destekleyen ancak kanıtlayamayan bir fenotiptir. String testi nicel bir test değildir ve kültür koşullarından, koloni yaşından ve kullanıcı tekniğinden etkilenebilmektedir (Yürek, 2021). Bu yüzden gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında hv izolatların belirlenmesi için string test sonuçları kullanılmamıştır. Bununla birlikte, literatürdeki son bulgular hipermukoviskoz fenotipin kendi başına bir hipervirülans için yeterli olmadığını göstermektedir. Hipermukoviskoz fenotipine sahip olmadığı halde invaziv enfeksiyonlara neden olabilen hvKP varyantları tanımlanmıştır. Bu nedenle, hipermukovikozitenin olmaması, hipervirülansı dışlamak için uygun bir yol değildir (Catalan-Najera ve diğ., 2017).

Literatürdeki birçok farklı çalışmada hipervirülant izolatları tanımlamak için farklı virülans faktör genlerinin varlığını kullanmıştır. Bazı çalışmalar string test sonucunda >5mm uzayan kolonilere sahip izolatları (Rastegar ve diğ., 2019), bazı çalışmalarda ise aerobaktin gen varlığı (Zhang ve diğ., 2016) hipervirülant izolatların tanımlanması için kullanılmıştır. Bunun yanısıra literatürdeki son bulgular *K. pneumoniae*'de var olan yaklaşık 219 kb büyüklüğündeki pLVPK plazmitinin virülans bir plazmit olduğu ve hipervirülans ile bu plazmiti taşıyan izolatlar arasındaki korelasyonu doğrulanmıştır (Gu ve diğ., 2019). Bu plazmit üzerinde kapsüler polisakarit düzenleyici genler (*rmpA* ve *rmpA2*) ve birkaç siderofor gen kümesi bulunur ve bu genlerin hvKP'nin hastalık oluşturma etkisine temel katkı sağladığı kabul edilir (Xu ve diğ., 2019). Son zamanlarda, Russo ve diğ. (2018), birkaç pLVPK'den türetilen lokusun hvKP'yi doğru bir şekilde ayırt edebildiğini ve bunların hvKP için potansiyel biyobelirteçler olarak hizmet edebileceklerini gösterdi.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında 53 KDKp izolatının virülans gen içeriği tanımlanmıştır. Hipervirülans izolatlar virülans plazmiti pLVPK-türevi lokuslarının (*iutA*, *rmpA*, *iroN*) varlığını kullanılarak tanımlanmıştır. Gerçekleştirilen tez çalışması sonucunda

53 KDKp izolatının 32'si (% 60.37) *iutA*, *rmpA* ve *iroN* genlerini beraber içerdiği tespit edilmiş ve bu izolatlar hipervirülant olarak değerlendirilmiştir.

Kapsül konakçı bağışıklık tepkisini nötralize ettiği ve istilacı bakterileri fagositozdan koruduğu için en önemli virülans faktörüdür (Paczosa ve Mecsas, 2016). Çalışmamızda kapsül oluşumu ile ilgili *magA*, *wcaG* ve *rmpA* genleri PZR yardımı ile belirlendi. Kapsül serotipini belirlemek için *wzi* geni PCR ile çoğaltıldı ve sekanslandı. Yaptığımız kapsül tipini belirleme çalışmalarında izolatların büyük çoğunluğunun (46 izolat, % 82) *wzi64* (K14.64) kapsül tipine sahip olduğu belirlendi. Literatürde yapılan son çalışmalar incelendiğinde birçok çalışmada karbapenem dirençli ve hipervirülant oldukları tespit edilen *K. pneumoniae* izolatlarında *wzi64* kapsül tipinin yaygın olduğu görülür. Zhu ve diğ. (2022) 2009-2018 yılları arasında Çin'de 3. Basamak bir hastanede gerçekleştirdikleri çalışmada 1.181 KDKp izolatı topladı. İzolatlarda en yaygın kapsül serotipi % 48.69 oranı ile *wzi64* olarak belirlendi.

Demir bakterilerin büyümesi, çoğalması ve konakta kalıcı enfeksiyon oluşumunda temel rol alır. Patojen bakteriler konaktaki proteinlere bağlı demiri kullanabilmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. Bunların içinde en bilineni sideroforlardır. Sideroforlar demir bağlama yeteneği olan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir (Kaleli ve diğ., 2006). Çalışmamızda *K. pneumoniae*'nin enfeksiyonu için son derece önemli olan demir alınımindan sorumlu bazı virülans genler (*iutA*, *ybtA*, *entB*, *kfuBC*, *fepA*, *fyuA*, *iroD*, *iroN*) PZR yardımı ile araştırıldı.

Çalışmamızda enterobaktin siderofor proteini *entB* ve spesifik resöprör proteini *fepA* çalışıldı ve izolatların tümü *entB* geni bakımından pozitif olarak tespit edilirken, sadece 14'ü spesifik reseptör geni *fepA* pozitif olarak tespit edildi. Sonuçlar izolatların tümünün enterobaktin sideroforunu oluşturabildiklerini fakat bazı izolatların sideroforun hücre içine alımı için gerekli olan spesifik reseptör proteini *fepA*'yı taşımadıklarını gösterdi. Zhao ve diğ. (2019) yaptıkları çalışmada izolatların tümünü *entB* geni açısından pozitif tespit ederken bazı izolatların *fepA* geni içermediklerini tespit ettiler.

Diğer bir siderofor olan salmoglein KDKp izolatlarında incelendiğinde izolatların 33'ünde salmoglein spesifik reseptörü olan *iroN*'yi taşıdıkları tespit edilirken, 6'sının salmoglein siderofor oluşumunda rol oynayan *iroD*'yi taşıdığı tespit edildi. KDKp izolatlarının yersiniabaktin ve aerobaktin içeriği incelendiğinde 34 izolatın yersiniabaktin oluşumu için

gerekli olan *ybtA* geni ve yersiniabaktin spesifik reseptörü olan *fyuA* genini beraber içerdiği tespit edildi. Bunun yanısıra tüm izolatların aerobaktin sideroforu spesifik reseptör proteini *iutA*'yı taşıdığı tespit edildi. Hipervirülant *K. pneumoniae*'de toplam siderofor üretiminin yaklaşık %90'ı aerobaktin sideroforu olduğu gösterilmiştir. Aerobaktinin deneysel koşullar altında hipervirülansa katkı sağlayan baskın siderofordur. Aerobaktin, enterobaktin ve yersiniabaktin ile karşılaştırıldığında hvKP'larda daha fazla bulunduğu ve daha spesifik olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda aerobaktin varlığı her zaman bir hiperkapsül ile ilişkilendirilmiştir. Bu ilişki, aerobaktin sentezi ve spesifik reseptör proteinini oluşturan genlerin kapsül üretiminin bir arttırıcısı olan *rmpA* geni ile birlikte aynı virülans plazmiti üzerinde taşınması gerçeğinden kaynaklanır (Zhu ve diğ., 2021). Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında KDKp izolatlarında Kp158 izolatı hariç diğer tümünde *iutA* ve *rmpA* genleri beraber tespit edildi. Bu veriler bize KDKp izolatlarının neredeyse tamamında aerobaktin ve kapsül üretimi arttırıcısı *rmpA* geninin aynı virülans plazmit üzerinde olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızdaki taranan siderofor virülans genleri göz önüne alındığında; KDKp izolatlarının en az bir siderofor taşıyabileceği düşünülmektedir.

Hipervirülant *K. pneumoniae* suşu NTUHK2044'ün genomik sekans analizi sonucunda kromozom üzerinde lokalize olan ve klasik *K. pneumoniae* suşlarına kıyasla yaygın olan ek bir demir taşıma sistemi olan *kfu* sistemi tanımlanmıştır (Lin ve diğ., 2008). Çalışmamızda *kfu* sisteminde yer alan ve ferrik demir alınımlı ABC transporter proteinini kodlayan *kfuBC* gen varlığı incelendiğinde tüm izolatların *kfuBC* geni açısından pozitif olduğu tespit edildi. Bu özellikler çalışmamızda kullanılan KDKp izolatlarının hipervirülant suşlar olduğunu kanıtlar niteliktedir.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde Kuş ve diğ. (2017) Hastane enfeksiyonu etkeni 53 *K.pneumoniae* suşunda siderofor mekanizması ile ilgili *entB*, *iutA*, *irp-1*, *irp-2*, *ybtS*, *fyuA*, *iroN* virülans genlerini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda enterobaktin sideroforu incelenen sideroforlar arasında en fazla bulunanı olduğu gösterilmiştir. Yu ve diğ. (2018) gerçekleştirdiği çalışmada 163 KDKp izolatında virülans gen içeriği araştırmışlardır. İzolatların 97'si ABD' de 2013 yılında New Jersey ve New York City'deki 9 hastaneden, 66'sı ise 2014 ve 2016 yılları arasında doğu Çin'deki iki hastaneden izole edilmiştir. Çalışma sonucunda ABD'den izole edilen hiçbir izolatta *rmpA/rmpA2*, *iutA*, *ütü* genlerine rastlamazken, Çin'den izole edilen 66 izolatın 32'sinde (48,5) *rmpA/rmpA2* ve *iutA*,

10'unda ise (%15.2) *ütü* geni pozitif bulundu. Zhao ve diğ. (2019) yaptığı çalışmada Çin'de kapsamlı bir eğitim hastanesinin Mart 2017'den Ocak 2018'e kadar yoğun bakım ünitesine kabul edilen sekiz hastadan 29 *K. pneumoniae* izole etmişlerdir. İzolatların PZR yardımıyla siderofor oluşumu ve reseptör genlerini taranmıştır. Çalışma sonucunda izolatların enterobaktin, aerobaktin ve yersiniabaktin siderofor mekanizmaları için gerekli olan genleri içerdikleri, fakat salmoglein mekanizması için gerekli olan genleri çoğunlukla taşımadıkları tespit edilmiştir. Literatürdeki sonuçlar gerçekleştirilen bu tez çalışması ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında da sıklıkla aerobaktin, yersiniabaktin ve enterobaktin siderofor mekanizması ile ilgili genler pozitif olarak tespit edilirken salmoglein siderofor mekanizması için gerekli olan genler yoğun olarak negatif bulunmuştur.

Tip 1 ve 3 fimbrialar, *K. pneumoniae* hücre zarının bileşenleridir ve hem biyolojik hem de biyolojik olmayan yüzeylere bağlanmaya aracılık ederek konakçı hücreler, dokular ve çevresel yüzeylerle bakteriyel etkileşimde önemli bir rol oynarlar (Gomez-Simmonds and Uhlemann, 2017). *K. pneumoniae* Tip 1 fimbrianın uç kısmında bulunan ve *fimH* geni tarafından kodlanan FimH proteini ile yüzeylere yapışmayı sağlar. FimH mannoza duyarlıdır yani konakçıda mannoz içeren glikoproteinlere bağlanır. Tip 1 fimbria, idrar yolu enfeksiyonunun ilk oluşumu için gereklidir (Paczosa ve Meccas, 2016; Zhu ve diğ., 2021). *mrkD* geni tarafından kodlanan Tip3 fimbrialar ise *K. pneumoniae* enfeksiyonlarında biyofilm oluşumu ve solunum epiteline, endotele, idrar kesesi hücrelerine ve kollajen tip V'e bağlanma ile ilişkilendirilmiştir (Baykara, 2021).

Literatürde 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 klinik örneklerden izole edilen 54 *K. pneumoniae* izolatının tümünde *fimH* geni, %96.3'ünde ise *mrkD* geni tespit etmişlerdir. 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. Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında izolatların tümü *fimH* (Tip 1) ve *mrkD* (Tip 3) fimbria yönünden pozitif olarak tespit edildi. Sonuçlarımız literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

KDKp izolatlarının epidemiyolojik özellikleri, popülasyon yapısı (MLST ve *wzi* dizilimi) analizleri ile belirlendi. Gerçekleştirilen MLST analizleri sonucunda izolatların 38'i (% 71.69) ST2096 tipinde olduğu tespit edildi. ST2096 KDKp izolatları arasında en yaygın olan epidemiyolojik tiptir.

ST2096 ilk kez 2019'da Hindistan'da bildirildi ve ST2096 klonlarının ayrıca *rmpA2*, *iutA* ve *iuc* gibi karakteristik virülans genleri ürettiği için hipervirulent olduğu rapor edildi (Shankar ve diğ., 2019; Wyres ve diğ., 2020). Fransa'da gerçekleştirilen bir çalışmada ise 2013–2021 döneminde, Fransa'da OXA-232 üreten *K. pneumoniae* izolatlarında 2 yüksek riskli klonun, ST231 ve ST2096'nın aşırı temsil edildiği gösterildi. Çalışmada gerçekleştirilen SNP analiz sonuçları OXA-232 üreten *K. pneumoniae* ST2096 klonunun ortaya çıkışının ve hızlı yayılmasının tek veya birkaç salgınla bağlantılı olmadığını ileri sürmüştür. Çalışmadaki 30 ST2096 *K. pneumoniae* izolatından 29'u OXA-232 üretirken, geri kalan izolat herhangi bir karbapenemaz üretmemiştir, bu da bu klonda yakın zamanda blaOXA-232 edinildiğini düşündürmüştür (Emeraud ve diğ., 2022). Yakın tarihli bir yayın, ST2096 ile daha yüksek bakteriyemi ve ölüm riski arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir (Isler ve diğ., 2022).

Literatürde gerçekleştirilen çalışmalar *K. pneumoniae* ST2096 klonlarının hem hv hemde ÇİD taşıdığını göstermektedir. Urooj ve diğ. (2022) Pakistan'da yaptıkları çalışmada izole ettikleri *K. pneumoniae*'nin ST2096 klon tipine sahip olduğunu belirlediler. Bu klonun aynı zamanda kolistin direnci ile birlikte ÇİD ve hipermukoviskoz özellik gösterdiği, geniş antibiyotik direnç ve virülans genlere sahip olduğunu tespit ettiler. Shankar ve diğ. (2020) Hindistan'da yaptıkları çalışmada bakteriyemili hastalardan izole edilen 9 *K. pneumoniae* izolatının hipervirulent ve karbapenem dirençli olduklarını tespit ettiler. Tüm izolatların ST2096 klonal tipine ve *wzi64* K-antijeni tipine sahip olduğu belirlendi. Hoşbul ve diğ. (2021) Türkiye'de yaptıkları bir araştırmada 38 *K. pneumoniae* izolatlarının OXA-48 ve NDM tipi karbapenemaz direnç profiline sahip olduğu ve 2 numaralı merkezden alınan örneklerin % 94'ünün ST2096 tipine sahip olduğunu belirlediler. Gerçekleştirdiğimiz bu

tez çalışmasında da KDKp izolatlarının % 71.69'unda ST2096 tipi belirlenmiştir. Bu klonun küresel yayılma riski, klinikte son çare olarak düşünülen karbapenem ve kolistin gibi antibiyotiklere karşı son derece yüksek direnç oranları nedeniyle sınırlı tedavi seçenekleri göz önüne alındığında ST2096 klonunun önemli bir tehdit oluşturduğu düşünülmektedir.

ST2096, ST14'ün tek lokuslu bir varyantıdır (Isler ve diğ., 2022). Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında, rep-PZR sonucunda çizilen dendograma göre Grup 2 kümesinde ST2096, ST324 ve ST14 klonal tipine sahip izolatlar birlikte grup oluşturmuşlardır. Bu sonuçlar ST2096 tipinin ST14'ün tek locus varyantının olduğunu doğrular niteliktedir.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında 53 izolattan 38'inde ST2096 belirlenirken, 3 izolatta ST101, 2'şer izolatta ST14, ST147, ST324, ST985, ST2237 ve 1 izolatta ST1561, ST5405 klonal tipleri belirlendi. Benzer şekilde Sundaresan ve diğ. (2021) 153 *K. pneumoniae* izolatında 37 farklı ST tipi belirlemişler ve bunlar arasında ST147, ST14, ST2096 ve ST101 tiplerini tespit etmişlerdir. Aynı zamanda çalışmadaki 153 *K. pneumoniae* izolatının K- tipi analizleri en yaygın kapsül tipinin wzi64 ve wzi51 olduğunda göstermiştir. Sundaresan ve diğ. (2021) tarafından elde edilen veriler bizim sonuçlarımız ile uyumludur.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında KDKp izolatlarının kapsül lokus tiplerinin (wzi) dağılımı ST tipleri ile spesifik bir ilişki gösterdiği belirlendi. Burada her kapsül lokus tipi sadece bir ST tipinde meydana geldiği ve aynı ST tipine ait tüm izolatlar için ortak olduğu görüldü. Çalışmamızda 38 ST2096, 2 ST147, 2 ST324, 2 ST14, 1 ST1561 tiplerine sahip izolatların aynı zamanda wzi64 kapsül tipini taşıdığı, 3 ST101 izolatının wzi137, 2 ST985 izolatının wzi39, 2 ST2237 izolatının wzi19, 1 ST5405 izolatının wzi50 kapsül tipinde olduğu tespit edildi. Rodrigues ve diğ. (2016) Portekiz'de gerçekleştirdikleri çalışmada Ekim 2014 ve Kasım 2015 tarihleri arasında karbapenem üreten 20 *K. pneumoniae* izole ettiler. Çalışmada izole edilen 20 izolatın 10'unu (%50) ST147 tipinde olduğu belirlendi ve bu izolatların wzi64 kapsül tipinde olduğu bulundu. Yine Kuzey Portekiz'de gerçekleştirilen bir başka çalışmada Perdigao ve diğ. (2020) klinik karbapenem dirençli 30 *K. pneumoniae* izole ettiler ve bu izolatlarda en baskın ST tipini 17 izolatla ST147 olarak belirlediler. Yaptıkları çalışmada bizim sonuçlarımıza benzer şekilde ST147 izolatlarının tümünde wzi64 kapsül tipini belirlediler. Benulic ve diğ. (2020) Slovenya'da yaptıkları bir

çalışmada, 32 KDKp izolatu elde ettiler. İzolatların OXA-48 ve NDM-1 tipi karbapenamaz içerikleri, ST tipleri ve *wzi* kapsül tiplerini belirlediler. Yapılan çalışma sonucunda izolatların 5'inin ST147, 4'ünün ise ST101 tipinde olduğunu buldular. ST147 izolatlarının biri hariç *wzi64* kapsül tipinde olduğunu, ST101 izolatlarının *wzi137* kapsül tipinde olduğunu gösterdiler. Gerçekleştirilen bu tez çalışması ile literatürdeki çalışmalar incelendiğinde; ST tipi ile kapsül tipi arasında korunmuş bir ilişkinin olduğunu gösterir. Hemde literatürde hemde bizim çalışmamızda ST147 tipi *wzi64* ile, ST101 tipi *wzi137* ile yakın ilişkilidir ve sonuçlarımız literatür ile uyumludur.

Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından alınan 53 KDKp izolatının antibiyotik direnç genlerinin ve virülans genlerinin moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda izolatların klonal benzerlikleri DNA parmak izi yöntemlerinden biri olan rep-PZR ile epidemiyolojik olarak klonal benzerlikleri ise MLST analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasının bazı kısıtlı yönleri bulunmaktadır. Bunlardan biri izolatların sadece Kırşehir ili ve çevre ilçelerindeki bir bölgeden gelen örneklerden izole edilen izolatlar ile gerçekleştirilmesidir. Fakat Kırşehir özellikle komşusu olduğu Ankara, Kayseri ve Kırıkkale gibi büyük şehirlerden sürekli olarak bir insan hareketliliğine maruz kalmaktadır. Kırşehir ili için belirlenen izolatların özellikleri özellikle yakın metropol illerde durum hakkında da bilgi vermektedir. Ayrıca Kırşehir ili ülkemizde gurbetçi oranı çok yüksek olan iller arasındadır. Yaz aylarında şehirin nüfusu gelen gurbetçiler ile artmaktadır. Bu gurbetçi hareketliliğide bize potansiyel bir ulus ötesi izolatlar hakkında bilgi verebilir. İkinci olarak bu tez çalışmasında KDKp izolatlarının hipervirülans özelliği pLVPK benzeri lokusların (*iutA*, *rmpA* ve *iron*) varlığı ile belirlenmiştir. Çalışmamızda KDKp izolatlarının plazmit DNA sekansları yeni nesil dizileme teknikleri ile elde edilebilir ve izolatların plazmit karakterizasyonları daha iyi anlaşılabilir. Bunun yanısıra, hipervirülant olarak değerlendirilen izolatların *in-vivo* denemeleri (gerek hayvan, gerekse *Galeria melonella*) gerçekleştirilerek patojenite özellikleri ve hipervirülansları hakkında daha ayrıntılı bilgiler elde edilebilir.

Bu kısıtlı yönlere rağmen gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında klinik KDKp izolatlarının tümünün çoklu ilaç direncine sahip olduğu ve % 32'sinin hipervirülant olduğu tespit edilmiştir. Bu durum hem hastane kaynaklı enfeksiyonlar hemde toplum kaynaklı enfeksiyonlar için çok ciddi bir durumdur. Çoklu ilaç dirençli hvKP izolatları iki farklı

mekanizma ile oluşabilir. Bunlardan ilki hvKP suşları direnç genlerini yatay veya horizontal gen transferi yoluyla kabul edebilir. İkinci olarak çoklu ilaç dirençli suşlar pLVPK gibi virülans plazmitleri elde ederek hipervirülant suşa dönüşebilirler. Yapılan çalışmalar ikinci seçeneğin *K. pneumoniae*'lerde daha yaygın olduğunu göstermektedir (Riwu ve diğ., 2022). ÇİD sahip hvKp suşlarının tedavisi zordur ve daha yüksek ölüm oranı ile ilişkilidir. Karbapenem ve kolistin gibi hekimlerin son çare olarak düşündüğü antibiyotiklerde dahil olmak üzere çoklu ilaç direncine sahip hvKP suşlarının yayılması, halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Son zamanlardaki hvKp izolatları, hem ÇİD hem de virülans determinantlarını kodlayan mozaik plazmidi barındırdığından, bu patojenlerin evriminin araştırılmasına ihtiyaç vardır. ÇİD-hvKP'lerin olası evrim yolunun izlenmesi, bu süper mikropların uygun şekilde izlenmesine ve yönetilmesine büyük ölçüde yardımcı olacaktır. Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışması Türkiye için KDKp izolatlarının virülans ve direnç mekanizmasının ayrıntılı olarak çalışıldığı ayrıca epidemiyolojik benzerliklerin açığa çıkarıldığı ilk çalışmadır.

KAYNAKLAR

Abiha, G., 2013, *Enterobacteriaceae Klinik İzolatlarında Beta Laktamaz Aktivitesinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması*, Doktora Tezi (PhD), Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Alay Kara, K., 2018, *Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterobacteriaceae Türlerinde Karbapenemaz Varlığının Fenotipik Olarak Araştırılması*, Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.

Alp E, Percin D, Colakoglu S, Durmaz S, Kurkcu Ca, Ekincioglu P, Gunes T., 2013. Molecular Characterization Of Carbapenem-Resistant Klebsiella Pneumoniae in A Tertiary University Hospital İn Turkey, *J. Hosp. Infect.* 84:178 –180.

Antunes, N.T., Lamoureaux, T.L., Toth, M., Stewart, N.K., Frase, H., Vakulenko, S.B., 2014, Class D beta-lactamases: are they all carbapenemases?, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 58, 2119 –2125.

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 Willey & Sons, New York, N.Y., USA.

Aydoğan, H., Başustaoğlu, A., 2000, Nozokomiyal Patojen Olarak *Klebsiella* Türlerinin Mikrobiyolojik, Klinik ve Epidemiyolojik Özellikleri, *Hastane Enfeksiyonları Dergisi*, 4, 135-143.

Babazadeh, F., Teimourpour, R., Arzanlou, M., Yousefipour, M., Mohammad Shahi, J., 2022, Phenotypic and molecular characterization of extended-spectrum β -lactamase/AmpC-and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Iran, *Molecular Biology Reports*, 49 (6), 4769-4776.

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.

Baran, I., Aksu, N., 2016, Phenotypic and genotypic characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in a tertiary-level reference hospital in Turkey, *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 15 (1), 1-11.

Barguigua, A., El Otmani, F., El Yaagoubi, F.L., Talmi, M., Zerouali, K., Timinouni, M., 2013, First report of a *Klebsiella pneumoniae* strain coproducing NDM-1, VIM-1 and OXA-48 carbapenemases isolated in Morocco, *APMIS*, 121, 675–677.

Baykara, B., 2021, *Toplum ve Hastane Kökenli Sistemik Enfeksiyonlardan İzole Edilen Karbapenem Dirençli Klebsiella pneumoniae Suşlarının Moleküler Sürveyansında Kapsül Tipleri ve Virülans Faktörlerinin Önemi*, Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.

Bektaş, A., GüdücüOğLu, H., Gürsoy, N.C., Berktaş, M., Gültepe, B.S., Parlak, M., Oltu, B., Tekerekoğlu, M.S., 2018, Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının GSBL genlerinin araştırılması, *Flora*, 23 (3), 116-123.

Bennett, P.M., 1999, Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria, *J Antimicrob Chemother*, 43 (1), 1-4.

Benulic, K., Pirs, M., Couto, N., Chlebowicz, M., Rossen, J. W., Zorec, T. M., Seme, K., Poljak, M., Zupanc, L.T., Sabljic, R.E., Cerar, T., 2020, Whole genome sequencing characterization of Slovenian carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, including OXA-48 and NDM-1 producing outbreak isolates, *PLoS One*, 15 (4), e0231503.

Berrazeg, M., Diene, S.M., Medjahed, L., 2014, New Delhi metallo b-lactamase around the world; an eReview using google maps, *Euro Surveill*, 19, 208-09.

Bilgin Y., 2006, *Escherichiae Coli* , *Klebsiella Pneumoniae*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Acinetobacter Baumanni* Ve *Staphylococcus Aureus* Suşlarında Çesitli Aminoglikozidlerin Duyarluluklarının Araştırılması, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji.

Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T., Garrity, G.M., Boone, D.R., Vos, P.D., Goodfellow, M., Rainey, F.A., Schleifer, K.H., 2005, The Gammaproteobacteria *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology*. 2nd ed., New York, ISBN: 978-0-387-24144-9.

Brise, 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, *J Clin Microbiol*, 51, 4073-4078.

Bush, K., Jacoby, G.A., 2010, Updated functional classification of beta-lactamases, *Antimicrob, Agents Chemother*, 54, 969–976.

Candan, E.D., Aksöz, N., 2015, *Klebsiella pneumoniae*: Characteristics of carbapenem resistance and virulence factors, *Acta Biochimica Polonica*, 62 (4).

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.

- Celikbilek, N., Unaldi, O., Kirca, F., Gozalan, A., Acikgoz, Z. C., and Durmaz, R., 2017, Molecular characterization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* species isolated from a Tertiary Hospital, Ankara, Turkey, *Jundishapur J. Microbiol.*, 10, e14341.
- 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.
- Chen, Y.T., Lin, A.C., Siu, L.K., Koh, T.H., 2012, Sequence of closely related plasmid encoding blaNDM-1 in two unrelated *Klebsiella pneumoniae* isolates in Singapore, *PLoS One*, 7:e48737.
- Clegg, S., Sebghati, T., 2001, *Klebsiella pneumoniae*. In: Sussman M, edr. *Molecular Medical Microbiology*. California: Academic Press;. pp. 1655–1680.
- Clements A., Gaboriaud F., Duval J.F.L., Farn, J.L., Jenney, W.A., Lithgow, T., Wijburg, O.L.C., Hartland, E.L., Strugnell, R.A., 2008, The major surface-associated saccharides of *Klebsiella pneumoniae* contribute to host cell association. *PLoS One*, 3 (11), e3817.
- Coque, T.M., Novais, A., Carattoli, A., Poirel, L., Pitout, J., Peixe, L., Baquero, F., Canton, R., Nordmann, P., 2008, Dissemination of Clonally Related *Escherichia coli* Strains Expressing Extended-Spectrum β -Lactamase CTX-M-15, *Emerging Infection Diseases*, 14(2), 195-200.
- Cruz-Córdova, A., Esteban-Kenel, V., Espinosa-Mazariego, K., Ochoa, S.A., Moreno Espinosa, S., de la Garza Elhain, A., Fernandez Rendon, E., Lopez Villegas, E.O., Xicohtencatl-Cortes, J., 2014, Pathogenic determinants of clinical *Klebsiella pneumoniae* strains associated with their persistence in the hospital environment, *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 71 (1), 15-24.
- Çakmak P., 2019, *Karbapenem Dirençli Klebsiella Türleri İle Rektal Kolonizasyonu Olan Hastalarda Enfeksiyon Oluşumuna Neden Olan Faktörlerin Retrospektif Olarak İncelenmesi*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi.
- Çiftci, A., Aksoy, A., 2015, Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları, *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*, 1(2), 1-10.
- Dash, N., Panigrahi, D., Zarouni, M.A., Darwish, D., Ghazawi, A., Sonnevend, A., Pal, T., Yasin, F., Hadi, S.A., 2014, High incidence of New Delhi metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Sharjah, United Arab Emirates, *Microb. Drug Resist.* 20, 52–56.
- David, S., Reuter, S., Harris, S. R., Glasner, C., Feltwell, T., Argimon, S., Abudahab, K., Goater, R., Giani, T., Errico, G., Aspbury, M., Sjunnebo, S., EuSCAPE working Group, ESGEM Study Group, Feil, E.J., Rossolini, G.M., Aanensen, D.M., Grundmann, H., 2019, Epidemic of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Europe is driven by nosocomial spread, *Nature Microbiology*, 4 (11), 1919-1929.

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.

Deniz, S., Büyük, F., Murat, K., 2021, Üriner Sistem Enfeksiyonlu Bireylerden İzole Edilen Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae Suşlarında CTX-M, TEM ve SHV Tipi Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz Aktivitesinin Otomatize Sistem ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. *Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi*, 11(2), 307-317.

Ebomah, K.E., Okoh, A.L., 2020, *Enterobacter cloacae* harbouring blaNDM-1, blaKPC , and blaOXA-48-like carbapenem-resistant genes isolated from different environmental sources in South Africa, *International Journal of Environmental Studies*, 77, 1-15.

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.

Elshamy, A.A., Aboshanab, K.M., 2020, A review on bacterial resistance to carbapenems: epidemiology, detection and treatment options, *Future Sci.*, OA. 6, FSO438.

Emeraud, C., Birer, A., Girlich, D., Jousset, A. B., Creton, E., Naas, T., Bonnin, R.A., Dortet, L., 2022, Polyclonal Dissemination of OXA-232 Carbapenemase–Producing *Klebsiella pneumoniae*, France, 2013–2021, *Emerging Infectious Diseases*, 28 (11), 2304-2307.

Erdem, F., Abulaila, A., Aktas, Z., Oncul, O., 2020, In vitro evaluation of double carbapenem and colistin combinations against OXA-48, NDM carbapenemase-producing colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains, *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9 (70), 1-9.

Ergen, P., Koçoğlu, M.E., Nural, M., Kuşkuçcu, M. A., Aydın, Ö., İnal, F. Y., Öztürk, H., Üçışık, A.C., Çaşkurlu, H., Güneysu, B., Yıldırım, B., Midilli, K., Çağ, Y., Arslan, F., Vahaboglu, H., 2022, Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* outbreak in a COVID-19 intensive care unit; a case-control study, *Journal of Chemotherapy*, 1-7.

Evans, B.A., Amyes, S.G., 2014, OXA β -lactamases, *Clinical microbiology reviews*, 27 (2), 241-263.

Fairfax, M.R., Queenan, A.M., Lephart, P.R., Kaye, K.S., Dror, M., Arnous, N., Salimnia, T.T., Mitchell, R.A., Alangaden, R.A., Salimnia, H., 2011, Detection of 2 SME-1 carbapenemase-producing *Serratia marcescens* in Detroit. *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 71 (3), 325-6.

Ferreira, R.L., Da Silva, B.C., Rezende, G.S., Nakamura-Silva, R., Pitondo-Silva, A., Campanini, E.B., Brito, M.C.A., Da Silva, E.M.L., De Melo Freire, C.C., Da Cunha, A.F., Pranchevicius, M.C.D.S., 2019, High prevalence of multidrug-resistant *Klebsiella*

pneumoniae harboring several virulence and β -lactamase encoding genes in a Brazilian intensive care unit, *Frontiers in microbiology*, 9, 3198.

Firoozeh, F., Mahluji, Z., Khorshidi, A., Zibaei, M., 2019, Molecular characterization of class 1, 2 and 3 integrons in clinical multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates, *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8 (1), 1-7.

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.

Follador, R., Heinz, E., Wyres, K. L., Ellington, M.J., Kowarik, M., Holt, K. E., Thomson, N.R., 2016, The diversity of *Klebsiella pneumoniae* surface polysaccharides. *Microbial genomics*, 2 (8).

Fresno, S., Jimenez, N., Canals, R., Merino, S., Corsaro, M.M., Lanzetta, R., Parrilli, M., Pieretti, G., Regue, M., Tomas, J.M., 2007, A second galacturonic acid transferase is required for core lipopolysaccharide biosynthesis and complete capsule association with the cell surface in *Klebsiella pneumoniae*, *J. Bacteriol*, 189 (3), 1128–1137.,

Fursova, N.K., Astashkin, E.I., Knyazeva, A.I., Kartsev, N.N., Leonova, E.S., Ershova, O.N., Alexandrova, I.A., Kurdyumova, N.V., Sazikina, S.YU., Volozhantsev, N.V., Svetoch, E.A., Dyatlov, I.A., 2015, The spread of *bla* OXA-48 and *bla* OXA-244 carbapenemase genes among *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter spp.* isolated in Moscow, Russia, *Annals of clinical Microbiology and Antimicrobials*, 14 (1), 1-9.

Gelemez, G., Hasdemir, U., Söyletir, G., 2019, Erişkin Yoğun Bakım Ünitelerinde Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* ile Kolonizasyon/Enfeksiyon Gelişimi ve Karbapenemaz Tiplerinin Dağılımı, *Ankem Dergisi*, 33 (3), 108-113.

Genç, S., Kolaylı, F., Özçelik, E.Y., 2022, Molecular characterization of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* strains by multiplex PCR and PFGE methods: The first *K. pneumoniae* isolates co-producing OXA-48/KPC and KPC/NDM in Turkey, *Journal of Infection and Chemotherapy*, 28 (2), 192-198.

Girlich, D., Bonnin, R.A., Dortet, L., Naas, T., 2020, Genetics of acquired antibiotic resistance genes in *Proteus spp.*, *Frontiers in Microbiology*, 11, 256.

Giufre, M., Accogli, M., Ricchizzi, E., Barbanti, F., Farina, C., Fazii, P., Mattei, R., Sarti, M., Barozzi, A., Buttazzi, R., Cosentino, M., Nardone, M., Savini, V., Spigaglia, P., Moro, L.M., Cerquetti, M., 2018, Multidrug-Resistant infections in long-term care facilities: extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and hypervirulent antibiotic resistant *Clostridium difficile*, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 91 (3), 275-281.

Gokmen, G., Nagiyev, T., Mera, T., Onlen, M., Heydari, C., Koksall, F., 2016, NDM-1 and rmtC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Turkey, *Jundishapur J Microbiol.*, 9 (10), e33990.

Gomez-Simmonds, A., Uhlemann, A.C., 2017, Clinical implications of genomic adaptation and evolution of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *The Journal of infectious diseases*, 215 (suppl_1), S18-S27.

Gu, D., Dong, N., Zheng, Z., Lin, D., Huang, M., Wang, L., Chan, E.W., Shu, L., Yu, J., Zhang, R., Chen, S., 2018, A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. *The Lancet infectious diseases*, 18 (1), 37-46.

Gündoğan, N., 2014, Batt C.A. Tortorello M.L. (Editör), Encyclopedia Of Food Microbiology. Second Edition, Academic Pres, Elsevier, USA.

Hanson, N.D., Moland, E.S., Hossain, A., Neville, S.A., Gosbell, I.B., Thomson, K.S., 2002, Unusual Salmonella enterica serotype typhimurium isolate producing CMY-7, SHV-9 and OXA-30 beta-lactamases, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49, 1011-1014.

Hazırolan, G., Karagöz, A., 2020, Emergence of carbapenemase-producing and colistin resistant *Klebsiella pneumoniae* ST101 high-risk clone in Turkey, *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, 67 (4), 216-221.

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.

Hosbul, T., Guney-Kaya, K., Guney, M., Sakarya, S., Bozdogan, B., Oryasin, E., 2021, Carbapenem and Colistin Resistant *Klebsiella Pneumoniae* ST14 and ST2096 Dominated in Two Hospitals in Turkey, *Clinical Laboratory*, 67 (9).

Iraz, M., Özad-Düzgün, A., Sandallı, C., Doymaz, M.Z., Akkoyunlu, Y., Saral, A., Peleg, A.Y., Özgümüş, O.B., Beriş, F.Ş., Karaoğlu, H., Çopu-Çiçek, A., 2015, Distribution of β -Lactamase Genes Among Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* strains Isolated From Patients in Turkey, *Ann Lab Med*, 35, 595-601.

Isler, B., Özer, B., Çınar, G., Aslan, A. T., Vatansever, C., Falconer, C., Dolapçı, İ., Şimşek, F., Tülek, N., Demirkaya, H., Menekşe, Ş., Akalin, H., Balkan, İ.İ., Aydın, M., Tigen-Tükenmez, E., Demir, K.S., Kapmaz, M., Keske, Ş., Doğan, Ö., Arabacı, Ç., Yağcı, S., Hazırolan, G., Bakır, V.O., Gönen M., Chatfield, M.D., Forde, B., Saltoğlu, N., Azap, Ö., Akova, M., Paterson, D.L., Can, F., Ergönül, Ö., 2022, Characteristics and outcomes of carbapenemase harbouring carbapenem-resistant *Klebsiella spp.* bloodstream infections: a multicentre prospective cohort study in an OXA-48 endemic setting, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 41 (5), 841-847.

- Ito, H., Arakawa, Y., Ohsuka, S., Wacharotayankun, R., Kato, N., Ohta, M., 1995, Plasmid-Mediated Dissemination of The Metallo- β -Lactamase Gene blaIMP Among Clinically Isolated Strains of *Serratia marcescens*, *Antimicrob Agents Chemother*, 39, 824–829.
- Jeon, B.C., Jeong, S.H., Bae, I.K., Kwon, S.B., Lee, K., Young, D., Lee, J.H., Song, J.S., Lee, S.H., 2005, Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 β -lactamase in Korea, *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 2241–2245.
- Jeon, J.H., Lee, J.H., Lee, J.J., Park, K.S., Karim, A.M., Lee, C.R., 2015, Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance, *Int. J.Mol.Sci.*, 16, 9654–9692.
- Jin, C., Zhang, J., Wang, Q., Chen, H., Wang, X., Zhang, Y., Wang, H., 2018, Molecular Characterization of Carbapenem-Resistant *Enterobacter cloacae* in 11 Chinese Cities, *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-8.
- Jin, C., Zhou, F., Cui, Q., Qiang, J., An, C., 2020, Molecular Characteristics of Carbapenem-Resistant *Enterobacter cloacae* in a Tertiary Hospital in China, *Infection and Drug Resistance*, 13, 1575–1581.
- Kaleli, İ., Demir, M., Cevahir, N., Yıldırım, U., 2006, Klebsiella Suşlarında Siderofor ve Serum Direncinin Araştırılması Investigation Of Siderophore and Serum Resistance in Klebsiella isolates, *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 20 (2), 97-101.
- Kapoor, G., Saigal, S., Elongavan, A., 2017, Action and resistance mechanisms of antibiotics: a guide for clinicians, *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*, 33(3), 300–305.
- Karabay, O., Altindis, M., Koroglu, M., Karatuna, O., 2016, The carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* threat is growing: NDM-1 epidemic at a training hospital in Turkey, *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 15, 6-15.
- Kılıç, A., Baysallar, M., 2015, The First *Klebsiella pneumoniae* isolate Co- Producing OXA-48 and NDM-1 in Turkey, *Ann. Lab.Med.* 35, 382–383.
- Kiratisin, P., Apisarnthanarak, A., Laesripa, C., Saifon, P., 2008, Molecular characterization and epidemiology of Extended-Spectrum beta Lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates Causing Health Care-Associated Infection in Thailand, Where the CTX-M Family Is Endemic, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52 (8), 2818-2824.
- 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.

- Kumar S., 2012, *Enterobacteriaceae: Escherichia, Klebsiella, Proteus and Other Genera* In: Kumar S. Textbook Of Microbiology 1 Baskı, London, Birleşik Krallık, Jaypee Brothers Medical Pub, 208-239.
- 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.
- Lee, C.R., Lee, J.H., Park, K.S., Kim, Y.B., Jeong, B.C., Lee, S.H., 2016, Global Dissemination of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. *Front. Microbiol.*, 7, 895-904.
- Lev, A.I., Astashkin, E.I., Kislichkina, A.A., Solovieva, E. V., Kombarova, T. I., Korobova, O. V., Ershova O.N., Alexandrova, I.A., Malikov, V.E., Bogun, A.G., Volozhantsev, N.V., Svetoch, E.A., Fursova, N.K., 2018, Comparative analysis of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in 2012–2016 that differ by antibiotic resistance genes and virulence genes profiles, *Pathogens and global health*, 112 (3), 142-151.
- Levesque, C., Piche, L., Larose, C., and Roy, P.H., 1995, PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39, 185–91.
- Li, B., Hu, Y., Wang, Q., Yi, Y., Woo, P.C., Jing, H., Zhu, B., Liu, C.H., 2013, Structural diversity of class 1 integrons and their associated gene cassettes in *Klebsiella pneumoniae* isolates from a hospital in China, *PLoS One*, 8 (9), e75805.
- Lin, T.L., Lee, C.Z., Hsieh, P.F., Tsai, S.F., Wang, J.T., 2008, Characterization of integrative and conjugative element ICE Kp1-associated genomic heterogeneity in a *Klebsiella pneumoniae* strain isolated from a primary liver abscess, *Journal of bacteriology*, 190 (2), 515-526.
- 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.
- Madni, O., Amoako, D.G., Abia, A.L.K., Rout, J., Essack, S.Y., 2021, Genomic Investigation of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Colonization in an Intensive Care Unit in South Africa. *Genes*, 12 (7), 951.

- Manson, J.M., Hancock, L.E., Gilmore, M.S., 2010, Mechanism of chromosomal transfer of *Enterococcus faecalis* pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 107 (27), 12269–74.
- Miethke, M., Marahiel, M.A., 2007, Siderophore-based iron acquisition and pathogen control, *Microbiology and molecular biology reviews*, 71 (3), 413-451.
- Mobasser, G., Thong, K.L., Rajasekaram, G., Teh, C.S.J., 2020, Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* from a Malaysian hospital, *Brazilian Journal of Microbiology*, 51 (1), 189-195.
- Munita, J.M., Arias, C.A., 2016, Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol Spectr.*, 4 (2), 15-20.
- Munoz-Price, L.S., Poirel, L., Bonomo, R.A., Schwaber, M.J., Daikos, G.L., Cormican, M., Cornaglia, G., Garau, J., Gniadkowski, M., Hayden, M.K., Kumarasamy, K., Livermore, D.M., Maya, J.J., Nordmann, P., Patel, J.B., Paterson, D.L., Pitout, J., Villegas, M.V., Wang, H., Woodford, N., Quinn, J.P., 2013, Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases, *Lancet Infectious Diseases*, 13, 785–96.
- Murphy, C.N., Clegg, S., 2012, *Klebsiella pneumoniae* and type 3 fimbriae: nosocomial infection, regulation and biofilm formation, *Future Microbiol.*, 7(8), 991–1002.
- Murray, P.R., Tenover, K.S., Tenover, M.A., 2010, *Tıbbi Mikrobiyoloji*. 6 Ed. Başustaoglu A, Editor. Ankara: Atlas Yayıncılık.
- Nordmann, P., Dortet, L., Poirel, L., 2012, Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm!, *Trends Mol. Med.*, 18, 263–72.
- Nordmann, P., Naas, T., Poirel, L., 2011, Global spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, *Emerg. Infect. Dis.*, 17, 1791-1798.
- Nordmann, P., Poirel, L., 2014, The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among *Enterobacteriaceae* worldwide, *Clin. Microbiol. Infect.*, 20, 821–830.
- Obalı, İ., 2020, *Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz Üreten ve Üretmeyen Klinik Klebsiella pneumoniae suşlarında Antibiyotik Duyarlılıkları, bla_{CTX-M}, bla_{TEM}, bla_{OXA}, bla_{SHV} GSBL Genlerinin ve PMQR Genlerinin Moleküler Karakterizasyonu*, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ofek, I., Doyle, R.J., 2012, *Bacterial adhesion to cells and tissues*. Springer Science & Business Media.
- Opoku-Temeng, C., Kobayashi, S.D., DeLeo, F.R., 2019, *Klebsiella pneumoniae* capsule polysaccharide as a target for therapeutics and vaccines. *Computational and structural biotechnology journal*, 17, 1360-1366.

- 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.
- Pan, Y.J., Lin, T.L., Chen, C.T., Chen, Y.Y., Hsieh, P.F., Hsu, C. R., Wu, M.C., Wang, J.T., 2015, Genetic analysis of capsular polysaccharide synthesis gene clusters in 79 capsular types of *Klebsiella spp.*, *Scientific reports*, 5 (1), 1-10.
- Papa-Ezdra, R., Caiata, L., Palacio, R., Outeda, M., Cabezas, L., Balsamo, A., Vignoli, R., Bado, I., Seija, V., 2021, Prevalence and molecular characterisation of carbapenemase-producing Enterobacterales in an outbreak-free setting in a single hospital in Uruguay, *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 24, 58-62.
- Park, C.H., Robicsek, A., Jacoby, G.A., Sahm, D., Hooper, D.C., 2006, Prevalence in the United States of aac(60)-Ib-cr encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50, 3953–3955.
- Perdigao, J., Caneiras, C., Elias, R., Modesto, A., Spadar, A., Phelan, J., Campino, S., Clark, T.G., Costa, E., Saavedra, M.J., Duarte, A., 2020, Genomic epidemiology of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* strains at a northern Portuguese hospital enables the detection of a misidentified *Klebsiella variicola* KPC-3 producing strain, *Microorganisms*, 8 (12), 1986.
- Pereira, P.S., Borghi, M., Albano, R.M., Lopes, J.C., Silveira, M.C., Marques, E.A., Oliveira, J.C.R., Asensi, M.D., Carvalho-Assef, A.P.D., 2015, Coproduction of NDM-1 and KPC-2 in *Enterobacter hormaechei* from Brazil, *Microb. Drug Resist.*, 21, 234–236.
- Pitout, J.D., Nordmann, P., Poirel, L., 2015, Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. *Antimicrob Agents Chemother*, 59, 5873–5884.
- Podschun, R., Ullmann, U., 1998, *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors, *Clinical microbiology reviews*, 11 (4), 589-603.
- Poirel, L., Bonnin, R.A., Nordmann, P., 2012a, Genetic features of the widespread plasmid coding for the carbapenemase OXA-48, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 56, 559–562.
- Poirel, L., Dortet, L., Bernabeu, S., Nordmann, P., 2011, Genetic features of blaNDM-1-200 positive *Enterobacteriaceae*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, 5403–5407.
- Poirel, L., Heritier, C., Tolun, V., Nordmann, P., 2004, Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 48, 15–22.

- Poirel, L., Özdamar, M., Ocampo-Sosa, A.A., Türkoglu, S., Ozer, U.G., Nordmann, P., 2012b, NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* now in Turkey, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56 (5), 2784-2785.
- Poirel, L., Pitout, J.D., Nordmann, P., 2007, Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences, *Future Microbiol.*, 2, 501–512.
- Poirel, L., Yilmaz, M., Istanbulu, A., Arslan, F., Mert, A., Bernabeu, S., Nordmann P., 2014, Spread of NDM-1-producing *Enterobacteriaceae* in a neonatal intensive care unit in Istanbul, Turkey. *Antimicrob Agents Chemother*, 58, 2929-2933.
- Queenan, A.M., Bush, K., 2007, Carbapenemases: the versatile beta-lactamases, *Clin. Microbiol. Rev.*, 20, 440–58.
- Rastegar, S., Moradi, M., Kalantar-Neyestanaki, D., Hosseini-Nave, H., 2019, Virulence factors, capsular serotypes and antimicrobial resistance of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* and classical *Klebsiella pneumoniae* in Southeast Iran, *Infection & chemotherapy*, 51.
- 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.
- Riwu, K. H.P., Effendi, M.H., Rantam, F.A., Khairullah, A.R., Widodo, A., 2022, A review: Virulence factors of *Klebsiella pneumonia* as emerging infection on the food chain, *Veterinary World*, 15 (9).
- Rodrigues, C., Bavlovic, J., Machado, E., Amorim, J., Peixe, L., Novais, A., 2016, KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* in Portugal linked to previously circulating non-CG258 lineages and uncommon genetic platforms (Tn 4401d-IncFIA and Tn 4401d-IncN). *Frontiers in microbiology*, 7, 1000.
- Russo, T. A., Olson, R., Fang, C. T., Stoesser, N., Miller, M., MacDonald, U., Hutson, A., Barker, J.H., La Hoz, R.M., Johnson, J.R., 2018, Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae*. *Journal of clinical microbiology*, 56 (9), e00776-18.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. ve Maniatis, T., 1990. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Lab. Press, Plainview, NY.
- Saral, A., 2015, *Acinetobacter baumannii* izolatlarında antibiyotik direnç genlerinin taranması, Blages-22 ve Bla_{oxa}-66 varyantlarının moleküler karakterizasyonu, Doktora Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.

- Saygı, Ş., Battal, D., Özlen Şahin, N., 2012, Çevre ve İnsan Sağlığı Yönünden İlaç Atıklarının Önemi, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16, 82-90,
- Schaechter, M., Medoff, G., Eisenstein, B.I., 1993, Mechanisms of microbial disease. 2nd ed. The Williams and Wilkins Co, Baltimore.
- Schechner, V., Straus-Robinson, K., Schwartz, D., Pfeffer, I., Tarabeia, J., Moskovich, R., Chmelnitsky, I., Schwaber, M.J., Carmeli, Y., Navon-Venezia, S., 2009, Evaluation of PCR-based testing for surveillance of KPC-producing carbapenem-resistant members of the *Enterobacteriaceae* family, *Journal of Clinical Microbiology*, 47, 3261–3265.
- Schmitt, J., Jacobs, E., Schmidt, H., 2007, Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* from patients of two hospitals in Saxony, Germany, *Journal of Medical Microbiology*, 56, 241–249.
- Seiffert, S.N., Marschall, J., Perreten, V., Carattoli, A., Furrer, H., Endimiani, A., 2014, Emergence of *Klebsiella pneumoniae* co-producing NDM-1, OXA-48, CTX-M-15, CMY-16, QnrA and Arm A in Switzerland, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 44, 260–262.
- Serbest, İ., 2022, *Klinik Örneklerden İzole Edilen Klebsiella pneumoniae Suşlarında Virülans Faktörlerinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması ve Antibiyotik Direnci ile İlişkilerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Shankar, C., Vasudevan, K., Jacob, J.J., Baker, S., Isaac, B.J., Neeravi, A.R., Sethuvel, D.P.M., George, B., Veeraghavan, B., 2020, Mosaic antimicrobial resistance/virulence plasmid in hypervirulent ST2096 *Klebsiella pneumoniae* in India: The rise of a new superbug?, *BioRxiv*.
- Shankar, C., Venkatesan, M., Rajan, R., Mani, D., Lal, B., Prakash, J.A.J., Anandan, S., Pragasam, A.K., Walia, K., Ohri, V.C., Veeraghavan, B., 2019, Molecular characterization of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* & its clonal relationship among Indian isolates. *The Indian Journal of Medical Research*, 149 (2), 199.
- Shankar-Sinha, S., Valencia, G.A., Janes, B. K., Rosenberg, J.K., Whitfield, C., Bender, R.A., Standiford, T.J., Younger, J.G., 2004, The *Klebsiella pneumoniae* O antigen contributes to bacteremia and lethality during murine pneumonia. *Infection and immunity*, 72 (3), 1423-1430.
- Sidjabat, H.E., Townell, N., Nimmo, G.R., George, N.M., Robson, J., Vohra, R., Davis, L., Heney, C., Paterson, D.L., 2015, Dominance of IMP-4-producing *Enterobacter cloacae* among carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Australia, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59 (7), 4059-4066.
- Silago, V., Kovacs, D., Samson, H., Seni, J., Matthews, L., Oravcová, K., Lupindu, A.M., Hoza, A.S., Mshana, S.E., 2021, Existence of multiple ESBL genes among phenotypically confirmed ESBL producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* concurrently

isolated from clinical, colonization and contamination samples from neonatal units at Bugando Medical Center, Mwanza, Tanzania, *Antibiotics*, 10 (5), 476.

Singha, P., Dhar, D., Maurya, P., Chakravarty, A., Bhattacharjee, A., 2015, Diversity of Class 1 Integrons and Carriage of Trimethoprim Resistance in Clinical Isolates of *Enterobacteriaceae* from India, *Archives of Clinical Microbiology*, 6 (4), 0-0.

Suay-Garcia, B., Perez-Gracia, M.T., 2019, Present and Future of Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) Infections, *Antibiotics*, 8, 122.

Sundaresan, A.K., Vincent, K., Mohan, G.B.M., Ramakrishnan, J., 2022, Association of Sequence types, Antimicrobial Resistance and Virulence Genes in Indian isolates of *Klebsiella pneumoniae*: A Comparative Genomics Study, *Journal of Global Antimicrobial Resistance*.

Tekeli, A., Dolapci, İ., Evren, E., Oguzman, E., Karahan, Z.C., 2020, Characterization of *Klebsiella pneumoniae* coproducing KPC and NDM-1 carbapenemases from Turkey, *Microbial Drug Resistance*, 26 (2), 118-125.

Topal, M., Şenel, G.U., Topal, E.I.A., Erdal, Ö.B.E.K., 2015, Antibiyotikler ve kullanım alanları, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 31 (3), 121-127.

Ulu, A.C., Gökmen, T.G., Kibar, F., Kurtaran, B., Önlen, C., Kuşçu, F., İnal, A.S., Kömür, S., Yaman, A., Aksu, H.S.Z., Taşova, Y., 2017, Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* at a Turkish centre: Is the increase of resistance a threat for Europe?, *Journal of global antimicrobial resistance*, 11, 10-16.

URL-1: <http://www.bldb.eu/Enzymes.php> [Ziyaret Tarihi: 15 Kasım 2022]

URL-2: <http://integrall.bio.ua.pt/> [Ziyaret Tarihi: 1 Kasım 2022]

URL-3: https://pubmlst.org/bigssdb?db=pubmlst_mlst_seqdef [Ziyaret Tarihi: 12 Aralık 2022]

URL-4: <https://bigssdb.pasteur.fr/> [Ziyaret Tarihi: 30 Ekim 2022]

Urooj, M., Shoukat, M., Imran, M., Ansar, M., Faryal, R., 2022, Emergence of hypermucoviscous colistin-resistant high-risk convergent *Klebsiella pneumoniae* ST-2096 clone from Pakistan, *Future Microbiology*, 17 (13), 989-1000.

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.

Wei, D.D., Chen, K.Q., Wang, L.H., 2016, Clinical and molecular characteristics of high virulent *Klebsiella pneumoniae* in infection in intensive care unit. *Chin. J. Nosocomiol.*, 26 (1), 5056–5059.

Wu K, Wang F, Sun J, Wang Q, Chen Q, Yu S, Rui, Y., 2012, Class 1 integron gene cassettes in multidrug-resistant gram-negative bacteria in southern China. *Int J Antimicrob Agents*, 40:264–7.

Wyres, K. L., Nguyen, T. N., Lam, M., Judd, L. M., van Vinh Chau, N., Dance, D. A., Ip, M., Karkey, A., Ling, C.L., Miliya, T., Newton, P.N., Lan, N.P.H., Sengduangphachanh, A., Turner, P., Veeraraghavan, B., Vinh, V.P., Vongsouvath, M., Thomson, N.R., Baker, S., Holt, K.E., 2020, Genomic surveillance for hypervirulence and multi-drug resistance in invasive *Klebsiella pneumoniae* from South and Southeast Asia. *Genome medicine*, 12 (1), 1-16.

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.

Yalçın E., 2010, *Etlerden İzole Edilen Klebsiella Türlerinde Siderofor Oluşumu, Serum Direnci, Hemolitik Aktivite Ve Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamaz Üretimini Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.

Yang, H., Duan, G., Zhu, J., Zhang, W., Xi, Y., Fan, Q., 2013, Prevalence and characterisation of plasmid-mediated quinolone resistance and mutations in the gyrase and topoisomerase IV genes among *Shigella* isolates from Henan, China, between 2001 and 2008, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 42, 173–177.

Yao, J.D.C., Moellering, R.C., Antibacterial agents, in *Manual of Clinical Microbiology*, 9th edition, edited by PR Murray et al., Washington D.C., ASM Press, 2007.

Yu, F., Lv, J., Niu, S., Du, H., Tang, Y. W., Pitout, J. D., Bonomo, R.A., Kreiswirth, B.N., Chen, L., 2018, Multiplex PCR analysis for rapid detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenem-resistant (sequence type 258 [ST258] and ST11) and hypervirulent (ST23, ST65, ST86, and ST375) strains, *Journal of clinical microbiology*, 56 (9), e00731-18.

Yüce, A., 2001, Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları, *Klinik Dergisi*, 14, 41-46.

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.

Zhan, L., Wang, S., Guo, Y., Jin, Y., Duan, J., Hao, Z., Lv, J., Qi, X., Hu, L., Chen, L., Kreiswirth, B.N., Zhang, R., Pan, J., Wang, L., Yu, F., 2017, Outbreak by hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* ST11 isolates with carbapenem resistance in a tertiary hospital in China, *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 182.

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.

Zhao, W.H., Hu, Z.Q., 2011, Epidemiology and Genetics of VIM-Type Metallo- β -Lactamases in Gram-Negative Bacilli, *Future Microbiol*, 6, 317–333.

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*, 229.

Zhou, C., Wu, Q., He, L., Zhang, H., Xu, M., Yuan, B., Zhi, J., Shen, F., 2021, Clinical and molecular characteristics of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* isolates in a tertiary hospital in Shanghai, China, *Infection and Drug Resistance*, 14, 2697.

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

Zhu, W., Liu, Y., Chen, F., Chen, S., Zhu, Y., Li, H., Wang, J., Liu, J., Li, Y., Yu, J., Guan, H., Yu, J., Shen, L., 2022, Cooccurrence of Antibiotic Resistance and Hypervirulence in High-Risk Carbapenem-Resistant K14. K64 and Wzi209 *Klebsiella pneumoniae* Strains Driven by Plasmids and Their Derivatives, *Microbiology spectrum*, e02541-21.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Ömer KARAKAMIŞ
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	2013

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
Makaleler SEZGİN, F. M., Sevim, A., KARAKAMIŞ, Ö., Şahin, N., Özdemir, B., & Sevim, E. İdrar Örneklerinden İzole Edilen Candida Suşlarına Karşı Viburnum opulus L.(Gilaburu) Meyve Ekstraktlarının Antifungal Aktivitesi. <i>Erzincan University Journal of Science and Technology</i> , 10(2), 232-242.
Uluslararası kongre ve sempozyumlarda sunulan bildiri Ali Sevim, Elif Sevim, Ömer Karakamış , Neslihan Şahin, Fikriye Milletli Sezgin, “Distribution of Beta-Lactamase and Carbapenemase Genes in <i>Klebsiella pneumoniae</i> strains Isolated from Patients in Kırşehir”, International DNA Day And Genome Congress, Kırşehir, Turkey, 2017. Fikriye Milletli Sezgin, Ali Sevim, Ömer Karakamış , Neslihan Şahin, Elif Sevim, “Determination of integron gene cassettes in multi drug resistance <i>Escherichia coli</i> strains in Kırşehir, Turkey”, International DNA Day And Genome Congress, Kırşehir, Turkey, 2017. Ömer Karakamış, Fikriye Milletli Sezgin, Elif Sevim, “Klinik örneklerden izole

edilen örneklerden izole edilen NDM-1 karbapenemaz üreten *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında direncin moleküler karakterizasyonu”, 5th International Congress on Agriculture, Environment and Health, Aydın, 2022.

Ulusal kongre ve sempozyumlarda sunulan bildiri

F. Milletli Sezgin, E. Sevim, A. Sevim, **Ö. Karakamış**, “*Escherichia coli* İzolatlarında Beta-Laktamaz Direnç Genleri ve İntegron Gen Kasetlerinin Araştırılması”, XXXVII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Türkiye, 2016.

F. Milletli Sezgin, M. Avcu, E. Sevim, G. A. Alagöz, **Ö. Karakamış**, A. Sevim, “Toplum Kökenli *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Metisilin Direnci ve Biyofilm Oluşumu”, XXXVII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Türkiye, 2016.

Projeler

Elif SEVİM (Proje Yürütücüsü), Fikriye Milletli SEZGİN (Araştırmacı), **Ömer KARAKAMIŞ (Bursiyer)**. TÜBİTAK Araştırma Destek Programları Başkanlığı (Proje No: 119Z024). Klinik *Enterobacter cloacae* İzolatlarında Karbapenem Direncinin Moleküler Karakterizasyonu. Bütçe: 45.000 TL, 2018- 2020.