



**T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**ÜRİNER VE SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN
E. COLI VE *KLEBSIELLA* İZOLATLARINDA BAZI VİRÜLANS GENLERİ
İLE ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN SIKLIĞI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. ALİ ATEŞ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Nizami DURAN

HATAY – 2019

**T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**ÜRİNER VE SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN
E. COLI VE *KLEBSIELLA* İZOLATLARINDA BAZI VİRÜLANS GENLERİ
İLE ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN SIKLIĞI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. ALİ ATEŞ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Nizami DURAN

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 18.U.010 proje numarası ile desteklenmiştir.

TEZ ONAY SAYFASI

T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÜRİNER VE SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN *E. COLI* VE *KLEBSIELLA* İZOLATLARINDA BAZI VİRÜLANS GENLERİ İLE ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN SIKLIĞI

Dr. Ali ATEŞ

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

(İmza).....

Prof. Dr. Yusuf ÖNLEN
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

(İmza).....

Prof. Dr. Nizami DURAN
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

(İmza).....

Prof. Dr. Nizami DURAN
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Prof. Dr. Nizami DURAN.....
2. Prof. Dr. Yusuf ÖNLEN.....
3. Prof. Dr. Fatih KÖKSAL.....

III. İÇİNDEKİLER

IV. TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	III
V. RESİM LİSTESİ.....	V
VI. KISALTMALAR VE SİMGELER..LİSTESİ	VI
VII. TEŞEKKÜR	IX
VIII. ÖZET	X
IX. ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENELBİLGİLER.....	7
2.1. <i>E. coli</i> Cinsi Bakteriler	7
2.1.1. <i>E. coli</i> 'nin Patojenik Tiplerinin Gelişimi (Patotipler)	7
2.1.2. <i>E. coli</i> Habitat Özellikleri	8
2.1.3.. <i>E. coli</i> Hücre Yapısı.....	8
2.1.4. <i>E. coli</i> Hücre Fizyolojisi	8
2.1.5. <i>E. coli</i> Serotipleri ile O, H ve K Antijenleri.....	10
2.1.6. <i>E. coli</i> Patotipleri	11
2.1.7.. Ekstraintestinal Patojenik <i>Escherichia coli</i>	16
2.1.8. <i>E.coli</i> 'de Direnç Mekanizmaları	19
2.1.9.. <i>E. coli</i> Direnç Epidemiyolojisi	20
2.1.10.. <i>E. coli</i> Salgınları	21
2.1.11. <i>E.coli</i> Enfeksiyonlarının Önlenmesi ve Kontrolü... ..	22
2.1.12. <i>E.coli</i> 'de Alternatif Tedaviler.....	24
2.2. <i>Klebsiella</i> Cinsi Bakteriler	24
2.2.1. İnsanlarda <i>Klebsiella</i> Patojenitesi ile İlgili Özellikler.	25
2.2.2. <i>Klebsiella</i> Kapsüler Polisakkarit Özellikleri	26
2.2.3. <i>Klebsiella</i> Kökenlerinde Fagositoza Karşı Direnç	26
2.2.4. <i>Klebsiella</i> Kökenlerinde Erken Enflamatuvar Yanıtın Baskılanması	27
2.2.5. <i>Klebsiella</i> Suşlarında Antimikrobiyal Peptidlere Karşı Direnç	27
2.2.6. <i>Klebsiella</i> Suşlarında Biyofilm.....	28
2.2.7. <i>Klebsiella</i> Türlerinde Biyofilm ile Virülans İlişkisi	28
2.2.8.Çeşitli <i>Klebsiella</i> Türleri	30

2.2.9 İnsanlarda <i>Klebsiella</i> Enfeksiyonları	32
2.2.10.Nozokomiyal Bir Patojen Olarak <i>Klebsiella</i>	34
2.2.11. <i>Klebsiella spp.</i> Epidemiyolojisi.....	35
2.2.12. <i>Klebsiella</i> Kökenlerinde Antibiyotik Direnci.	37
2.2.13. <i>E. coli</i> ve <i>Klebsiella</i> Cinsi Bakterilerde Önemli Bazı Direnç Genleri .	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	44
3.1..Araç ve Gereçler.....	44
3.2..Örneklerin Toplanması ve Kültivasyon.....	45
3.3..Kullanılan Besiyerleri ve Solüsyonlar	48
3.3.1.Kanlı Agar.....	48
3.3.2.Eosin Metilen-Blue Agar	48
3.3.3.Kasyon Ayarlı Mueller Hinton Broth	49
3.3.4.Gliserollü Brain-Heart İnfüzyon Broth.....	49
3.4. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Kolistin Antibiyotik Duyarlılığının Belirlenmesi. .	49
3.5.Genomik DNA Ekstraksiyonu	51
3.6.PCR Amplifikasyonu	52
3.7.PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforez Tekniği ile Görüntülenmesi. ..	53
3.8..İstatiksel Analiz	56
4. BULGULAR.	57
5. TARTIŞMA.....	80
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	98
7. KAYNAKLAR	105
8. ÖZGEÇMİŞ	129

IV. TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablo 1. Kullanılan virülans ve direnç gen primerleri ile PCR döngü protokolleri	46
Tablo 2. <i>E.coli</i> ve <i>Klebsiella</i> izolatlarının sayı, cinsiyet ve uyruk bazlı dağılımı	58
Tablo 3. <i>E.coli</i> ve <i>Klebsiella</i> suşlarının izole edildiği birimlere göre dağılımı	58
Tablo 4. <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotik direnç profili.	59
Tablo 5. <i>K. pneumoniae</i> izolatlarının antibiyotik direnç profili	60
Tablo 6. <i>K. oxytoca</i> izolatlarının antibiyotik direnç profili	61
Tablo 7. <i>E. coli</i> ve <i>Klebsiella</i> izolatlarının antimikrobiyal direnç profilleri	62
Tablo 8. Üriner sistem izolatlarının antimikrobiyal direnç profilleri.....	63
Tablo 9. Solunum yolundan izole edilen kökenlerde antimikrobiyal direnç profilleri.	64
Tablo 10. Türk-Suriye uyruklu hasta izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık dağılımı	66
Tablo 11. Türk-Suriye uyruklu hastaların idrar örneklerinden elde edilen izolatların antimikrobiyal duyarlılık dağılımı	68
Tablo 12. Türk-Suriye uyruklu hastaların solunum yolu örneklerinden elde edilen izolatların antimikrobiyal duyarlılık dağılımı	69
Tablo 13. İzolatlarda kinolon direnci ve <i>qnrA</i> , <i>B</i> ve <i>S</i> direnç gen dağılımı	70
Tablo 14. <i>E. coli</i> ve <i>Klebsiella oxytoca</i> kökenlerinde <i>qnrA</i> gen pozitivitesi ile siprofloksasin ilaç direnci.....	70
Tablo 15. İzolatlarda <i>qnrB</i> gen pozitivitesi ve siprofloksasin direnç profili	71
Tablo 16. İzolatlarda <i>qnrS</i> gen pozitivitesi ve siprofloksasin direnç profili	72
Tablo 17. İdrar ve solunum örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların karbapenem direnç....profili	73
Tablo 18. Ertapenem dirençli izolatların numune tipi ve uyruk bazlı dağılımı	73
Tablo 19. Meropenem dirençli izolatların numune ve uyruk bazlı dağılımı	74

Tablo 20. İdrar ve solunum örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların kolistin direnç profili.....	75
Tablo 21. İzole edilen mikroorganizmalarda <i>rmpA</i> virülans gen pozitivitesi.....	75
Tablo 22. İzole edilen mikroorganizmalarda <i>wcaG</i> virülans gen pozitivitesi.....	76
Tablo 23. ESBL pozitif saptanan izolatların numune tipi ve uyuğa dayalı dağılımı.....	77
Tablo 24. ESBL pozitif saptanan izolatların antibiyotik direnç paterni.....	78
Şekil 1. Numune tipine göre izolatların dağılımı.....	57



V. RESİM LİSTESİ

Resim 1 ...PCR Cihazı (Thermal cycler, Techne Flexigene™, İngiltere)	48
Resim 2 ...İzolatlarda kolistin antibiyotik duyarlılığının sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmesi	51
Resim 3 ...PCR ürünlerinin yürütüldüğü elektroforez ünitesi (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD).....	53
Resim 4 .Jel elektroforez sonrası PCR ürünleri görüntüleme cihazı (Wealtec Dolphin-View, ABD, UV Transilluminator).	54
Resim 5 . <i>QnrB</i> (469 bp) direnç geni PCR görüntüsü.....	55
Resim 6 . <i>QnrA</i> (516 bp) ve <i>QnrS</i> (417bp) direnç genleri PCR görüntüsü.....	55
Resim 7 . <i>RmpA</i> (516 bp) ve <i>wcaG</i> (169 bp) virülans genleri PCR görüntüleri.....	55
Resim 8 . <i>MagA</i> (1280 bp) direnç geni PCR görüntüsü	56

VI. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

- μ l : mikrolitre
 μ m : mikrometre
rpm : revolutions per minute
Bp : Base pare (baz çifti)
cm : santimetre
dk : dakika
gr : gram
kDA : Kilo Dalton
mg : miligram
ml : mililitre
sn : saniye
°C : Santigrat derece
AIDS :Acquired Immundeficiency Syndrome (Kazanılmış immun yetmezlik sendromu)
DNA : Deoksiribonükleik asit
EDTA : Etilen diamin tetra asetik asit
TSI : Three Sugar İron (Üç Şekerli Demir)
ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (Enzim Bağlı İmmun Assay)
HIV : Human immundeficiency virus (İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü)
KOH : Potasyum hidroksit
PBS : Fosfat tampon solüsyonu
PCR : Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
RNA : Ribonükleik asit
İYE : İdrar Yolu Enfeksiyonları
YBÜ : Yoğun Bakım Ünitesi
DM : Diabetes Mellitus
E. coli : *Escherichia coli*
ESBL : Extended-spectrum beta-lactamases (Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz)

KPC : *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (*Klebsiella pnömoni* karbapenemaz)
MagA : Mucoviscosity associated gene A (Mukovizkozite ile ilişkili gen A)
RmpA : Regulator of mucoid phenotype A (Mukoid fenotipin regülatörü)
Qnr : Quinolone resistance (Kinolon direnci)
VAP : Ventilatör ilişkili pnömoni
ABC : ATP bağlayıcı kaset
ExPEC: Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (Ekstra-intestinal patojenik *Escherichia coli*)
EPEC : Enteropathogenic *Escherichia coli* (Enteropatojenik *Escherichia coli*)
EHEC : Enterohemorajik *Escherichia coli*
ETEC : Enterotoxigenic *Escherichia coli*
EAEC : Enteroaggregative *Escherichia coli*
EIEC : Enteroinvasive *Escherichia coli*
DAEC : Diffusely adherent *E. coli* (Yaygın yapışan *E. coli*)
STEC : Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (Şığa toksin üreten *E. coli*)
NMEC: Neonatal Meningitis-causing *Escherichia coli* (Yenidoğan menenjitine neden olan *E. coli*)
HUS : Hemoitik Üremik Sendrom
Stx : Shiga toksinleri
UPEC : Uropathogenic *E. coli*
MAEC: Meningitis Associated *E. coli* (Menenjit ile ilişkili *E. coli*)
ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control (Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi)
MSHA: Mannose-sensitive hemagglutination(Mannoza duyarlı hemaglütinasyon)
MRHA: Mannose resistant hemagglutination (Mannoza dirençli hemaglütinasyon)
CPS : Kapsüler Polisakkarid
TLR : Toll-like Receptor (Toll benzeri reseptör)
hBDs : Human β -defensins (İnsan β -defensinleri)
LPS : Lipopolisakkarit

VIM : Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase
IMP : İmipenemaz Metallo- β -laktamaz
NDM : New Delhi Metallo- β -laktamaz (Yeni Delhi Metallo- β -laktamaz)
MDR : Multi Drug Resistant (Çok ilaca direnç)
CRE : Karbapenem Resistant *Enrobacteriaceae*
PCR : Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
EMB : Eozin Metilen Blue
EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi)
MİK : Minimum İnhibitör Konsantrasyon
GNB : Gram Negatif Basil
AB : Antibiyotik
AM : Ampisilin,
AMC : Amoksisilin/ Klavulonik Asit
TPZ : Piperasilin/Tazobaktam
CXA : Sefuroksim Aksetil,
CAZ : Seftazidim
CRO : Seftriakson
FEP : Sefepim
ETP : Ertapenem
MEM : Meropenem
AK : Amikasin
CN : Gentamisin
CIP : Siprofloksasin
TGC : Tigesiklin
CT : Kolistin
SXT : Trimetoprim Sulfametoksazol
S, I, R : Duyarlı, Orta duyarlı, Dirençli

VII. TEŞEKKÜR

Asistanlık sürecinde ve tez çalışmalarım boyunca bana destek ve özverisini esirgemeyen, her türlü bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, zorlandığım zamanlarda beni yönlendiren ve yardımcı olan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Nizami DURAN'a,

Asistanlık eğitimim süresince bana her türlü desteği veren, bilgi ve deneyimlerini paylaşan Sayın Prof. Dr. Burçin ÖZER'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında yardımını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Sayın Emrah AY, Funda ÇİMEN, Nesrullah AZBOY ve Suphi BAYRAKTAR'a teşekkür ederim.

MKÜ Merkez Laboratuvarında beraber mesai paylaştığım tüm laboratuvar çalışanlarına,

Uzmanlık eğitimim süresi boyunca birbirimize destek olup sırt sırta verdiğimiz Dr. Sezin ÇOLAK HALLUM'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her şartta yanımda olan, üstümde sonsuz emekleri ve fedakarlıkları bulunan değerli annem ve babama minnettarlarımı sunarım.

Her zaman bana kendimi çok değerli hissettiren, eğitimim boyunca beni hep destekleyen ve yoğun zamanlarımda sabır gösteren canım, sevgili eşim Meltem ATEŞ'e sonsuz teşekkürler...

Dr. Ali ATEŞ
Hatay / 2019

VIII. ÖZET

Amaç: İdrar ve solunum yollarından izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarında mukoidal fenotiple ilişkili virulans genleri (*magA*, *rmpA*, *wcaG*), kinolon direnç genleri (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*), karbapenem (*KPC*) ve kolistin (*mcr-1*) direnç genlerinin sıklığını ve fenotipik yöntemlerle elde ettiğimiz antibiyotik direnç profillerinin karşılaştırmasını yapmayı hedefledik. Ayrıca 2011 yılı Suriye savaşından sonra önemli bir mülteci merkezi haline gelen Hatay bölgemizde Suriye kökenli hastalarla Türk hastaların antibiyotik direnç profillerinin karşılaştırılması da planlanmıştır.

Yöntem: Bakterilerin identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri otomatize sistem ile kolistin direnci ise sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. İzolatlardaki direnç ve virulans genleri multipleks PCR ile araştırılmıştır.

Bulgular: İzolatların 127'si idrar, 37'si solunum numuneleriydi. Yetmiş dört *E. coli*, 68 *K. pneumoniae* ve 22 *K. oxytoca* suşlarının ampisilin, amoksisilin/klavulonik asit, sefuroksim aksetil, seftazidim, seftriakson, sefepim, trimetoprim/sulfametoksazol ve siprofloksasin antibiyotiklerine karşı yüksek direnç tespit edilmiştir. Tüm izolat türlerinde en düşük direnç kolistin, ertapenem, meropenem ve amikasinine karşı saptanmıştır. *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* kökenlerinde kinolon direnci sırasıyla %66.2, %52.9 ve %59 olarak tespit edilmiştir. Kinolon direnci ile ilişkili *qnrA* geni *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* kökenlerinde sırasıyla %5.4, %0 ve %9.1, *qnrB* geni sırasıyla %17.5, %23.5, %22.7, *qnrS* geni ise sırasıyla %9.4, %16.1, %22.7 oranlarında saptanmıştır. Tüm izolatlar dikkate alındığında ertapenem direncinin %10.3, meropenem direncinin ise %9.7 olduğu saptanmıştır. Ancak karbapenem direnç genlerinden *KPC-2* tespit edilmemiştir. Toplam 7 (%4.2) izolatla kolistin direnci saptanırken, kolistin direnci ile ilişkili *mcr-1* genine rastlanmamıştır. Tüm izolatlar dikkate alındığında virülans genlerinden *rmpA*, *wcaG* ve *magA* gen oranları sırayla %6.7, %4.2 ve %1.2 olarak bulunmuştur.

Sonuçlar: İdrar ve solunum yolu örneklerinden izole edilen *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *K. oxytoca* kökenlerinde ampisilin, amoksisilin klavulonik asit, sefuroksim aksetil, seftazidim, seftriakson, sefepim, trimetoprim sulfametoksazol ve siprofloksasin gibi ajanlara karşı olan yüksek direnç oranları göz önünde bulundurulmalıdır. İzolatlarda yüksek siprofloksasin direnci ile kıyaslandığında daha düşük *qnr* direnç gen oranlarına rastlanmıştır. Ancak *qnr* pozitifliği saptanan izolatlarda yüksek siprofloksasin direnç oranları tespit edilmiştir. Karbapenem direnç genlerinden *KPC-2*'ye ve kolistin direnci ile ilişkili genlerden *mcr-1* pozitivitesine rastlanmamıştır. Virulans genleri (*wcaG*, *rmpA*, *magA*) genel olarak düşük oranlarda saptanırken en düşük oranda saptanan gen *magA* olmuştur.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, *Klebsiella*, antibiyotik direnç, kolistin, gen, virülans.

IX. ABSTRACT

THE FREQUENCY OF SOME VIRULENCE GENES AND ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES IN *E. COLI* AND *KLEBSIELLA* ISOLATES ISOLATED FROM URINARY AND RESPIRATORY INFECTIONS

Aim: We aimed to investigate the frequency of virulence genes (*magA*, *rmpA*, *wcaG*) associated with mucoidal phenotype, quinolone resistance genes (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*), carbapenem (*KPC*) and colistin (*mcr-1*) resistance genes in *E. coli* and *Klebsiella* strains isolated from urinary and respiratory tracts and to compare the antibiotic resistance profiles obtained with phenotypic methods. In addition, it is planned to compare the antibiotic resistance profiles of Syrian patients and Turkish patients in Hatay region which became an important refugee center after the Syrian war of 2011.

Methods: The identification of bacteria and antibiotic susceptibility tests were determined by automated system and colistin resistance was determined by liquid microdilution method. Resistance and virulence genes in the isolates were investigated by multiplex PCR.

Results: 127 of the isolates were urine and 37 were respiratory samples. High resistance to ampicillin, amoxicillin / clavulonic acid, cefuroxime axetil, ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, trimethoprim / sulfamethoxazole and ciprofloxacin antibiotics of 74 *E. coli*, 68 *K. pneumoniae* and 22 *K. oxytoca* strains were detected. The lowest resistance was detected against colistin, ertapenem, meropenem and amikacin in all isolate species. The quinolone resistance of *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* strains was 66.2%, 52.9% and 59%, respectively. The *qnrA* gene associated with quinolone resistance in *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* strains was 5.4%, 0% and 9.1%, respectively, *qnrB* gene was 17.5%, 23.5%, 22.7%, *qnrS* gene was 9.4%, 16.1%, 22.7% respectively. When all isolates were considered, it was found that ertapenem resistance was 10.3% and meropenem resistance was 9.7%. However, *KPC-2*, one of the carbapenem resistance genes, was not detected. While colistin resistance was detected in 7 isolates (4.2%), no *mcr-1* gene related to colistin resistance was found. Considering all isolates, *rmpA*, *wcaG* and *magA* gene ratios of virulence genes were found to be 6.7%, 4.2% and 1.2%, respectively.

Conclusion: High resistance rates against agents such as ampicillin, amoxicillin clavulonic acid, cefuroxime axetil, ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, trimethoprim sulfamethoxazole and ciprofloxacin should be considered in *K. pneumoniae*, *E. coli* and *K. oxytoca* strains isolated from urine and respiratory samples. Compared to high ciprofloxacin resistance in isolates, lower *qnr* resistance genes were found. However, high ciprofloxacin resistance rates were detected in isolates with *qnr* positivity. *KPC-2*, one of the carbapenem resistance genes, and *mcr-1*, one of the genes related to colistin resistance, were not detected. Virulence genes were generally detected at a low rates and the lowest rate was *magA*.

Key Words: *E. coli*, *Klebsiella*, antibiotic resistance, colistin, gene, virulence

1. GİRİŞ VE AMAÇ

E. coli, *Enterobacteriaceae* ailesine ait hem toplum kökenli hem hastane kökenli enfeksiyonlara yol açabilen Gram negatif ve çubuk şeklinde bir bakteridir. *E. coli* üriner sistem enfeksiyonları, kan dolaşımı enfeksiyonları, kulak yolu, yara yeri enfeksiyonları, diyare gibi oldukça farklı organ ve dokularda enfeksiyonlara yol açan önemli bir patojendir. *E. coli* vajen ve gastrointestinal sistem florasının bir parçası olduğu gibi gelişmekte olan ülkelerde neonatal menenjit ve septisemi gibi birçok hastalıkla da ilişkili bulunmuştur (1). *E. coli*'nin sebep olduğu üriner sistem enfeksiyonları az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde en sık rastlanan enfeksiyonlardan biridir. Araştırmalarda yıllık 250 milyon vakanın görüldüğü bildirilmektedir (2). Bu hastalıkların tedavisinde en çok kullanılan antibiyotikler arasında beta laktam grubu antibiyotikler yer almaktadır. Fakat antibiyotiklerin yaygın kullanılması dünyada antibiyotik dirençli suşların artmasına ve yayılmasına neden olmaktadır (3). Son yıllarda tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de antimikrobiyal direncin artması ciddi halk sağlığı sorunu haline gelmiş olup bu durum hastanede kalış süresi, mortalite ve morbiditenin artmasına neden olmaktadır (4). Ayrıca uzayan yatış süresi sağlık giderlerinin ve tedavi edilemeyen olguların artışına da yol açmaktadır.

E. coli gibi *Enterobacteriaceae* ailesinden olan *Klebsiella* cinsi mikroorganizmalar da son derece önemli insan patojenleri arasında yer almaktadır. *Klebsiella* türü mikroorganizmalar Gram negatif, sporsuz, fermentasyon yapan fakültatif anaerob, çubuk şeklinde hareketsiz bakteriler olup, insanlarda mukozal yüzeylere affiniteleri yüksektir. Kolonizasyon oranı hastanede yatış ve antibiyotik kullanımına göre artış göstermektedir. Bakteri özellikle immüsuprese hastalarda üriner sistem enfeksiyonları, pnömoni, abdominal enfeksiyon, septisemi ve menenjit gibi önemli enfeksiyonlara yol açabilmektedir (5). *Klebsiella pneumoniae*'ye bağlı septisemi tablosunun diyabet, immüsupresyon, malignite ve hastanede yatış gibi komorbid durumlarla ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu patojenden kaynaklanan invaziv

enfeksiyonlar yüksek mortaliteye sahiptir (6). *Klebsiella* enfeksiyonlarında en sık *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'nın izole edildiği bildirilmektedir (7). *Klebsiella* cinsi içinde yer alan *Klebsiella pneumoniae* sağlıklı bireylerde piyojenik karaciğer apsesinin önemli bir nedenidir (8). İlk kez 1998 yılında Tayvan'dan rapor edilmiştir. Asya ve ABD'de karaciğer apselerinin başlıca sebebi olarak *Klebsiella* suşları gösterilmektedir (9).

Klebsiella türü mikroorganizmaların önemli virulans faktörlerinden biri *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz (*KPC*) enzimlerini taşıması olarak gösterilmektedir. *KPC* enzimleri ilk olarak 1996 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde tespit edilmiş ve bu enzimi taşıyan bakterilerin tüm beta laktamlara dirençli olduğu görülmüştür. *Enterobacteriaceae* ailesi içinde *KPC* oldukça yaygın olarak üretilmektedir. Yunanistan, ABD, İsrail'de 2000'li yıllardan sonra *KPC* salgınları rapor edilmiştir. Dünyada *KPC*'nin Avrupa, Amerika ve Doğu Asya'da *Enterobacteriaceae* üyelerinden salgılanan en yaygın karbapenemaz olduğu bildirilmektedir (10).

Gram negatif bakterilerden *Enterobacteriaceae* ailesinde çok ilaca dirençli organizmaların uygun tedavisi antibiyotik seçeneklerinin sınırlı ve yeni antibiyotik çalışmalarının azlığı nedeniyle alarm vermektedir. Beta laktam antibiyotiklerin *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizma enfeksiyonlarının tedavisinde kullanımıyla beraber genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (*ESBL*) üreten suşların oranı artmıştır. Bunun sonucunda 3. ve 4. kuşak sefalosporinlere de direnç gelişmiş ve sonuçta bu durum karbapenem kullanımının artmasına neden olmuştur. Öncelikle plazmid tarafından kodlanan karbapenemazların aracılık ettiği karbapenem direncinin ortaya çıkması ve yayılması bu nedenle aşırı endişe verici bir durum olarak değerlendirilmektedir (11). *K. pneumoniae*'nin nozokomiyal izolatları arasındaki çoklu ilaç direncinin artması, bu enfeksiyonların tedavisi için uygun tedavi seçeneklerini sınırlandırmaktadır. Karbapenemler geniş bir antibakteriyel aktivite spektrumu olan beta laktam antibiyotiklerdir. Karbapenemlerin gereksiz, aşırı ve kötüye kullanımı karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* suşlarının artmasına neden olmaktadır. Karbapenemlere karşı direnç mekanizmaları bakteriyel dış zar geçirgenliğinde azalma, *ESBL*, *AmpC* beta laktamaz ve karbapenemaz ekspresyonunun artması şeklinde olabilmektedir (12). Karbapenem direncine neden

olan mekanizmalardan özellikle *KPC* üretimi, *K. pneumoniae* gibi *Enterobacteriaceae* izolatlarında enzimatik direncin en önemli mekanizmasıdır. *KPC*'ler *bla-KPC* geni tarafından kodlanmakta ve Tn3 tip transpozon (Tn4401) üzerinde yer almaktadır. Bu transpozun Gram negatif bakterilerin çeşitli plazmidlerine eklenebilir. *Bla-KPC* taşıyan plazmidler diğer antibiyotiklere dirençle de ilişkilidir (13). *K. pneumoniae*, *KPC*'leri taşıyan en yaygın tür olmaya devam etse de diğer bazı Gram negatif bakterilerde de tanımlanmıştır (14). *KPC* üreten bakteriler başlangıçta New York City bölgesinden bildirilmesine rağmen, dünya genelinde *Enterobacteriaceae* izolatlarında *bla-KPC* varlığı tespit edilmiştir (15). *KPC*'ler karbapenem direncinin ilk ve tek mekanizmasını göstermemektedir. Bunlar genellikle rutin duyarlılık tarama testleri ile tespit edilemedikleri ve dağılım açısından istisnai bir potansiyele sahip olmadıkları için önem arz etmektedirler. Enfeksiyon kontrol çalışmaları sınırlı antibiyotik seçeneklerinden dolayı yeterince efektif yapılamamaktadır (16). Bununla birlikte *KPC* üreten bakterilerin rutin antibiyotik duyarlılık testleriyle belirlenmesinde zorluklarla karşılaşabilmektedir. Bu patojenlerin yayılmasını sınırlamak için etkili enfeksiyon kontrol önlemlerini uygulamak esastır.

Günümüzde kolistin karbapenem dirençli Gram negatif bakterilerin tedavisinde seçilecek ilaçlardan biri haline gelmiştir. ESBL pozitif ve karbapenemaz üreten *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarının büyük çoğunluğunun kolistine duyarlı olduğu bilinmektedir (17). Bununla birlikte *Klebsiella pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavisinde kolistin kullanılmasıyla beraber bu ilaca karşı da dirençli vakalar görülmeye başlamıştır (18). Kolistin etkinliğini arttırmak ve dirençli suşların oluşumunu azaltmak için her zaman diğer etkili antibiyotiklerle kombine edilmelidir (19). Karbapenemlere duyarlı suşların neden olduğu ağır enfeksiyonlarda imipenem ve meropenem yerine kolistin kullanılması daha yüksek mortaliteyle ilişkili bulunduğundan, karbapenemleri tolere edemeyen hastalarda kombinasyon tedavisinin bir parçası olarak düşünülmelidir (20).

Günümüzde polimiksin grubu antibiyotikler (polimiksin B ve colistin) karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* tedavisinde son çare ilaçlardır. Bu nedenle 2012 yılında kolistin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından insan sağlığı için kritik öneme sahip ilaç kategorisine alınarak yeniden sınıflandırılmıştır (21). Kolistin iki değerlikli katyonları lipopolisakkarit membranda yer alan Lipid A'nın negatif yüklü

fosfat gruplarıyla yer değiştirerek bakteriyel dış zar ile etkileşime girmekte ve sonuçta hücre lizisine neden olmaktadır (22). Kasım 2015'te yeni bir plazmid aracılı kolistin direnç mekanizması tanımlanmıştır (23). Bu kolistin direncinin, Çin'deki bir çalışmada domuzdan izole edilen *E. coli* izolatlarında yer alan IncI2 plazmid bölgesindeki *mcr-1* geni tarafından olduğu gösterilmiştir. *Mcr-1* geni Lipit A'ya transfer edilen fosfoetanolamini oluşturan fosfoetanolamin transferaz enzimini kodlamakta bu da bakterilerin kolistine direnç geliştirmesine yol açmaktadır. Plazmidin konjugasyon ve transformasyon yolu ile aktarılabildiği ve kolistin varlığı veya yokluğuna göre en az 14 gün *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa*'da stabil olarak muhafaza edildiği gösterilmiştir. Plazmid aracılı direnç mekanizmaları kolistin yokluğunda stabil olarak varlığını sürdürmektedir (23). Bu mekanizmalar bakteri suşları arasında transfer edilebilmekte ve Gram negatif bakterilerin tedavisinde büyük riske neden olmaktadır. Bu plazmitlerin özellikle hastanede yatan hastalar arasında yayılımı Gram negatif bakterilerin tedavisinde antibiyotik öncesi döneme dönülmesini hızlandıracaktır (24). Kromozom aracılı kolistin direnci ESBL üreten ve üretmeyen *Enterobacteriaceae* ailesinde tespit edilmiştir. Gen hayvanlardan, besinlerden ve hastalardan elde edilen *E. coli* izolatlarında tespit edilmiştir (25). Yakın zamanda tespit edilmiş olmasına rağmen uzun bir süredir var olduğu düşünülmektedir. Çalışmalarda 1980'lere dayanan pozitif izolatların Çin'de tavuklardan elde edildiği bildirilmektedir. Günümüzde hala *mcr-1* geninin prevalansı net olarak bilinmemektedir. Bunun en önemli sebebinin yapılan çalışmaların çoğunun kolistin direnci olan izolatlar üzerinde yapılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (26).

Son yıllarda çok ilaca dirençli *K. pneumoniae* izolatları da dünya genelinde büyük bir sorun haline gelmiştir. Kinolon direnci *Enterobacteriaceae* aile üyeleri arasında dünya çapında bir fenomen haline gelmiştir (27). Bu ailedeki kinolon direncinin ana mekanizması DNA giraz ve topoizomeraz 4'ün kinolon direnci belirleyen bölgelerinin (QRDRs) eflux pompa arttırımı yaparak veya kromozom kaynaklı bakteri hücre duvar geçirgenliğini azaltarak birikimin azalmasına yol açmasıdır (28). Plazmid aracılı kinolon direncinin (PMQR) *qnr* genleri ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu *qnr* genleri (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*) pentapeptid ailesinin proteinlerini kodlamakta ve kinolonların bakteriyel DNA giraz ve topoizomeraz 4

üzerindeki etkisini azaltmaktadır (29,30). PMQR ile ilişkili *qnr* genleri sıklıkla farklı klinik *Enterobacteriaceae* türlerinde ve ilk olarak 1994'te *K. pneumoniae* izolatlarında gösterilmiştir. Bu gen daha sonra *qnr A1* olarak ifade edilmiştir (29). Bu tarihten sonra dünyanın birçok merkezinde direnç durumları rapor edilmeye başlanmıştır (31, 32).

Son yıllarda özellikle Asya bölgesinde metastatik karaciğer apselerine neden olan *K. pneumoniae*'nin invaziv bir tipinin izole edildiği bildirilmiştir (33). Bu invaziv tipte K1 ve K2 kapsüler tip ve *magA*, *rmpA* genleri ve aerobaktin varlığı gibi önemli virulans faktörleri tanımlanmıştır (34). *MagA* geni *wzy* olarak bilinen 1,2 kb uzunluğunda ve kapsül sentezinde rol oynayan önemli bir virülans faktörüdür (35). Bu nedenle *K. pneumoniae* suşlarında *magA* geninin varlığı serum bileşenlerine ve fagositoza dirence neden olmaktadır. Serum komponentleri, *magA* geni bulunduran bakterilerin hücre membranına kolayca ulaşamamakta ve fagositozun gerçekleşmemesine neden olmaktadır. Sonuç olarak *magA* bozukluğu fagositoza karşı tam direnç kaybına neden olmaktadır. Bu nedenle *K. pneumoniae* K1 suşları indüklenen metastatik enfeksiyonlarda önemli bir virülans belirleyicisi olarak işlev görmektedir (36).

Enterobacteriaceae'de bir diğer önemli virülans faktörünün ise *rmpA* olduğu bildirilmiştir. *RmpA* *K. pneumoniae*'de kapsüler antijen ekspresyonunun bir regülatörüdür (37). Bu genin varlığı kapsüler polisakkaridin daha kalın olmasına ve invaziv *K. pneumoniae* enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Fakat *magA* ile karşılaştırıldığında patogenezdaki rolünün düşük olduğu bildirilmektedir. Bazı çalışmalar hipermukoviskozitik fenotip ile *rmpA* gen varlığının üriner sistem patogenezinde önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir (38). Kapsül önemli bir virülans faktörü olup bakteriye mukoid bir fenotipik özellik kazandırmaktadır. *RmpA* (regülatör of mucid phenotype A) plasmid geni *K. pneumoniae* izolatlarının polisakkarid üretimini arttırarak hipermukovisköz fenotipik özellik kazandırmaktadır (39). *WcaG* virülans geni ise kromozomun transfer edilebilir bölgelerinde bulunmakta ve *K. pneumoniae* kapsül biyosentezinden sorumlu ve mannozun fukoza dönüştürülmesi için gerekli olan ve bakterilerin makrofajlar tarafından fagositozdan kaçınma kabiliyetlerini arttırabilen proteinler sentezlemektedir (40). Direnç ve

virülans bağımsız özellikler değildir ve ilişkileri enfeksiyonların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır.

Çalışmamızda idrar ve solunum yollarından izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarında PCR yöntemi ile mukoidal fenotiple ilişkili virülans genleri (*magA*, *rpmA*, *wcaG*), kinolon direnç genleri (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*) ile karbepenem (*KPC*) ve kolistin (*mcr-1*) direnç genlerinin sıklığını ve fenotipik yöntemlerle elde ettiğimiz antibiyotik direnç profillerinin karşılaştırmasını yapmayı hedefledik. Ayrıca çalışmamızda 2011 yılı Suriye savaşından sonra önemli bir mülteci merkezi haline gelen Hatay bölgemizde Suriye kökenli hastalarla Türk hastaların antibiyotik direnç profillerinin karşılaştırılması da planlanmıştır. Bu çalışma ile bölgemizde *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarının direnç profilleri belirlenecek ve bu etkenlerle oluşan enfeksiyonların tedavisi için yol gösterici olacaktır. Böylece bu mikroorganizmalara bağlı mortalite ve morbidite oranlarının azalacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *E. coli* Cinsi Bakteriler

2.1.1. *E. coli*'nin Patojenik Tiplerinin Gelişimi (Patotipler)

Escherichia coli, 1885 yılında Alman bakteriyolog Theodor Escherich tarafından insan kolonunda keşfedilen Gram negatif, fakültatif anaerobik bir bakteridir (41). *Enterobacteriaceae* ailesinin bir üyesi olan *E. coli*, insan ve sıcakkanlı hayvanların gastrointestinal bölgelerinde en yaygın bulunan ve en önemli patojenlerden birisidir. Konak ile karşılıklı olarak yararlı bir ilişki içinde yaşamakta ve nadiren hastalığa neden olmaktadır. Bununla birlikte, geniş bir hastalık yelpazesinden sorumlu olduğu için aynı zamanda en yaygın insan ve hayvan patojenlerinden birisidir. *E. coli*'nin kullanım kolaylığı, tüm genom dizisinin mevcudiyeti ve hem aerobik hem de anaerobik koşullar altında büyümesi gibi kendisine has özellikleri onu biyoteknolojide önemli bir konakçı organizma yapmaktadır. *E. coli* hem endüstriyel hem de tıbbi alanda çok çeşitli uygulamalarda kullanılır ve rekombinant DNA teknolojisi alanında en çok kullanılan mikroorganizmadır (42).

E. coli'nin virulan suşları klinik olarak birbirlerinden epidemiyoloji, belirti ve semptomlarına göre ayırt edilir. Ayrıca konak hücreleriyle, biyotiplerle ve eşsiz gen markerleriyle etkileşimlerinin mikroskobik gözlemlerine dayanarak da ayırt edilirler. Bağımsız patojenik *E. coli* tiplerinin evrimi dikkat çekicidir ve bugüne kadar herhangi bir başka bakteri cinsine göre eşsizdir. Bunun nasıl gerçekleştiği belirsizdir, ancak muhtemelen farklı memeli konakçılarının eşzamanlı evrimi ile bağlantılıdır (43). Genel ishal kökenleri A, B1 ve D filogenetik gruplarında daha sık bulunurken, ekstraintestinal *E. coli* suşları B2 soyunda daha yaygındır (44).

2.1.2. *E. coli* Habitat Özellikleri

Escherichia coli ince barsak terminali ve memelilerin kalın bağırsaklarında bulunan flora elemanıdır. Genellikle bu çevrede en bol bulunan fakültatif anaeroblardır. Bazen memeli olmayan hayvanların ve böceklerin bağırsak yollarından izole edilebilirler. *E. coli*'nin ortamda bulunması genellikle fekal kontaminasyonu yansıtmaktadır. Mikroorganizmanın bağırsak dışında serbest bir şekilde çoğalma kabiliyeti olmadığı kabul edilmektedir. Ancak *E. coli*'nin tropikal tatlı suda serbestçe çoğalabildiğini gösteren kanıtlar da vardır (45).

2.1.3. *E. coli* Hücre Yapısı

Escherichia coli, Gram negatif, spor yapmayan bir basildir. Bunlar yaklaşık 0,5 µm çapında ve 1,0–3,0 µm uzunluğundadır. Periplazmanın içinde tek bir peptidoglikan tabakası bulunur. Peptidoglikan N-asetilmuramik asidin, bir amid bağı ile L-alanin, D-glutamik asit, mezo-diaminopimelik asit ve son olarak D-alaninden oluşan bir peptide bağlandığı tipik bir alt birim yapısına sahiptir. *Escherichia coli* peritrikoz flagella vasıtasıyla sıvı içinde genellikle hareketlidir. *Proteus*'ta görülen aşırı flajella ve uzamaya bağlı tipik dalga benzeri davranış ve farklılaşma bazı katı besiyerlerinde gözlenebilmektedir. *Escherichia coli* yaygın olarak fimbriyalıdır. Tip I pili en yaygın olanıdır. *E. coli*'nin farklı patotiplerinin genetik adalarında yaygın olarak kodlanan özelliklerden biri ek pililerdir (chaperone-usher ve tip IV pili aileleri ve pili olmayan adezinler) (46).

2.1.4. *E. coli* Hücre Fizyolojisi

Escherichia coli fakültatif bir anaerobtur. Nitratları nitritlere indirgeyebilir. Glukoz veya diğer karbonhidratlar üzerinde fermentasyon ile çoğalırken asit ve gaz

üretir. Geleneksel olarak klinik laboratuvarlarda yapılan biyokimyasal testlerde indol üretimi ve metil kırmızısı testi pozitif olarak saptanır. Suşların çoğu oksidaz, sitrat, üreaz ve hidrojen sülfid negatiftir. *E. coli*'yi *Shigella* ve *Salmonella*'dan ayırmak için öncelikli olarak kullanılan klasik test, *E. coli*'nin bu iki cinsin yapamadığı laktoz fermente etme kabiliyetidir. Laktoz dışında çoğu *E. coli* suşu ayrıca D-mannitol D-sorbitol ve L-arabinose, maltoz, D-ksiloz, trehaloz ve D mannozu fermente edebilir. Patojenik suşlarla kommensal suşların metabolik kabiliyetleri arasında sınırlı oranda farklılıklar vardır. Örneğin, kommensal *E. coli* suşları genellikle sorbitol kullanır, ancak *E. coli* O157: H7 kullanmaz. İshale neden olan suşların çoğu D-serin'i karbon ve azot kaynağı olarak kullanamaz, ancak üropatojenik ve kommensal dışkı suşları serinin bu enantiyomerini kullanabilir (47).

E. coli suşlarının çoğu geniş bir sıcaklık aralığında (yaklaşık 15-48 °C) üreyebilmektedir. Optimal üreme ısısı 37-42 °C'dir. *Escherichia coli*'nin üremesi için en optimal pH aralığı ise yaklaşık 5.5-8.0 olup, nötral pH'yı çok sever. Bazı diyarejenik *E. coli* suşları pH 2.0'a maruz kalmayı tolere etme kabiliyetine sahiptir. Böyle bir asit şoku mideden geçerken hayatta kalmayı sağlayan ve patogeneizde rol alan gen kümelerinin ekspresyonunu indükler (48).

E. coli'nin demir metabolizması özellikle iyi çalışılmış bir konudur (49). Ferrik demir *E. coli*'ye sitrat, enterobactin, aerobactin, yersinabactin ve heme gibi şelat bileşikleri tarafından sunulmaktadır. Bu şelatlayıcıların her biri ATP bağlayıcı (ABC) transport sistemleri tarafından sitoplazmik zara sokuldukları dış zar boyunca uzanan ve alımlarını sağlayan oldukça spesifik dış zar proteinlerine sahiptir. Patojenik *E. coli* suşlarını normal florada bulunan *E. coli* suşlarından ayıran önemli bir özellik çok çeşitli şelatlayıcılardan ferrik demir alma kabiliyetlerinin yüksek olmasıdır. Çoklu gen sistemleri demirin konakçı antibakteriyel faktörlerle sınırlandırılabilceği yerlere adaptasyonu sağlamaktadır (50). Aerobactin gibi virülans arttırıcı demir toplama sistemleri genellikle plazmidler tarafından kodlanmakta veya patojenik adalarda bulunmaktadır.

Patojenite ve enfeksiyon bölgesi temelinde *Escherichia coli* suşları kommensal suşlar, intestinal patojenik suşlar ve ekstraintestinal patojenik *E. coli* (ExPEC) suşları gibi üç ayrı gruba ayrılır (51). Ekstraintestinal patojenik *E. coli*

suşları bağırsaklarda eş zamanlı olarak yaşamaktadır. Ancak bazen ekstraintestinal bölgelere bulaşmakta ve gastroenterit, idrar yolu enfeksiyonu, menenjit ve septisemi gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedir (52). *E. coli* genellikle fırsatçı bir patojen olarak kabul edilmektedir. Birçok *E. coli* suşu hastalığa neden olan kendilerine özgü yetenek sağlayan özel virülans faktörlerine sahiptir. *E. coli* ayrıca farklı gıda kaynakları ve suların ortak bir kontaminantıdır ve sıklıkla sudaki dışkı kontaminasyonunu tahmin etmek için indikatör organizma olarak kullanılmaktadır.

2.1.5. *E. coli* Serotipleri ile O, H ve K Antijenleri

Antijenlerin serotiplendirilmesi patojenik *E. coli* suşları ile çevresel ve klinik numuneleri tanımlamak ve epidemiyolojiyi anlamak için yararlıdır. Serotiplendirme kommensal mikroorganizmalar arasında olası patojenik suşları tespit etmek için belirlenmiş bir yöntem olarak kabul edilmektedir. *E. coli* O (somatik), H (flagellar) ve K (kapsüler) yüzey antijen profillerine dayanarak serotiplendirilir. O, H, K antijeni birçok kombinasyonda bulunur ve spesifik kombinasyonları spesifik bir serotip oluşturmaktadır. O, H ve K sınıflarının (56 H-antijeni, 80 K-antijeni, 173 O-antijeni) birçok antijeni rapor edilmiş olup bu serotiplerin 50.000-100.000 arasında serotip yapan olası kombinasyonlarının olabileceği bildirilmektedir (53).

O antijeni *Escherichia coli*'nin hücre duvarında bulunan bir termostabil lipopolisakkarit bileşenidir. O antijenleri patojen-konakçı etkileşimlerinde büyük rol oynayan önemli virülans faktörleri olup *E. coli* suşlarının sınıflandırılmasında ve salgınların kaynağının izlenmesinde de kullanılmaktadır. O antijeni glikan polimerini lipopolisakkaritin yüzey katmanında oluşturmaktadır. Lipopolisakkarit tabakada aşırı miktarda O bileşeni bulunması onu pürüzsüzleştirmekte ve O bileşeninin olmaması onu kaba ve hidrofobik yapmaktadır (54). O antijeninin varlığı veya yokluğu bakteriyel hücre içerisindeki ilaçların penetrasyonunu da belirleyebilmektedir.

Escherichia coli'nin flagellar filamanı flagellin denilen tek bir proteinden oluşmaktadır. *E. coli*'nin flagellin proteinlerinin terminal bölgesi korunurken merkezi

bölge değişkindir ve H-serotipi için antijen taşır. *E. coli*'de H tiplmesi önemlidir, çünkü epidemik ishal hastalıklarına neden olan suşlar, benzersiz O: H antijenik kombinasyonları ile normal dışkı florasından ayırt edilebilmektedir (55).

K antijeni zarf veya kapsül antijenlerini tanımlamaktadır. *Escherichia coli*'nin kapsüller (K) antijenleri virülans kabiliyetine sahiptir, çünkü bakterileri konakçı lökositleri tarafından fagositoza dirençli hale getirmektedir. Bakterilerde bulunan K antijenleri idrar yolu enfeksiyonlarında virülans ile ilişkilidir.

2.1.6. *E. coli* Patotipleri

Escherichia coli normalde insan konakçı bağırsaklarında yaşamakta ve genellikle zararsız olup bazen hayatı tehdit eden hastalıklara yol açabilmektedir. Bağırsak patojenik *E. coli* suşlarının altı patotipi tarif edilmiştir: Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteroaggregative *E. coli* (EAEC), Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) ve Diffüz Adheran *E. coli* (DAEC).

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

Enteropatojenik *E. coli* gelişmekte olan ülkelerde infantil ishalin yaygın bir nedenidir. İnce bağırsak enterositlerinin yüzeyinden emici mikrovilli kaybına neden olur (56).

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) tarihsel olarak O55: H6 ve O127: H6 gibi serotipler temelinde tanınmıştır. Halen intestinal epitelde bağlanmaya ve lezyonlara neden olan, ancak Shiga toksinleri (verotoxins) olmayan ve ishal yapan *E. coli* suşları olarak tanımlanmaktadır. Bu özelliklere sahip olan çok çeşitli *E. coli* serotipleri vardır. Bu da serotip sınıflandırma şemalarını yetersiz hale getirmekte ve

çeşitli patojenik mekanizmaların ve evrimsel soyların olabileceğini göstermektedir. EPEC hastalığı genel olarak ince bağırsakta EPEC'in üremesinin bir sonucu olarak meydana gelmektedir. EPEC mukus içerebilen ancak tipik olarak kan içermeyen sulu bir diyareye neden olur. Kusma, ateş, halsizlik ve dehidratasyonla da ilişkilidir. Uzun, kronik EPEC hastalık örnekleri olmasına rağmen semptomlar çoğunlukla birkaç gün gibi kısa bir süre devam etmektedir.

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)

Enterohemorajik *E. coli*, kanlı ishal veya hemorajik kolitin primer nedeni olarak kabul edilir. Bu grubun karakteristik özelliği Shiga toksinleri (Stx) olarak da bilinen verositotoksinlerin üretilmesidir. Stx kolonda üretilir ve kanlı ishal ile sonuçlanarak dokuya zarar verir (57). Daha sonra böbrek endotel hücrelerinin içinden böbreğe giderek renal inflamasyon ile sonuçlanır.

Daha ayrıntılı olarak ele alacak olursak EHEC, basit sulu ishal olarak ortaya çıkabilen kalın bağırsak hastalığına neden olur ve daha sonra bağırsak ülseri ile birlikte kanlı dışkı şeklinde ilerlemektedir. Birkaç gün sonra az bir hasta grubunda ciddi, hayatı tehdit eden hemolitik-üremik sendroma (HUS) yol açmaktadır. HUS hemolitik anemi, trombositopeni ve böbrek yetmezliği şeklinde üçlü triadı içermektedir. EHEC hastalığının insanlara bulaşması kontamine sığır eti ya da sığır dışkısı ile kontamine olmuş yiyeceklerin alınması yoluyla gerçekleşmektedir. EHEC suşları sığırlarda hastalığa neden olmamakta ve bağırsak mikroflorasının geçici üyeleri olarak bulunmaktadır. EHEC'in dikkat çekici özelliklerinden biri 10-100 organizma gibi düşük sayıda organizma ile enfeksiyona neden olmasıdır. Açıkçası bu mikroorganizma diğer birçok enterik bakteri patojeni ile karşılaştırıldığında özel olarak aside tolerans kabiliyetine sahiptir. Beş yaşın altındaki çocuklar EHEC hastalığının başlıca hedefidirler, ancak yaşlılarda da kanlı ishal ve HUS görülebilmektedir. Epidemiyolojik olarak Amerika Birleşik Devletleri, Japonya ve Büyük Britanya'da O157: H7 serotipi en yaygın EHEC türüdür. Dünyanın diğer

bölgelerinde bu türün hastalığa neden olduğu gözlemlenebilir, ancak diğer serotipler (örneğin, O26 ve O111) de benzer bir hastalığa neden olmaktadır.

HUS'a yol açan tüm faktörler, muhtemelen böbrek hasarında önemli bir rol oynayan Shiga toksininden (bazen “Shiga benzeri toksin” veya “verotoksin” olarak adlandırılır) kaynaklanmaktadır. Bunun dışında diğer faktörler bilinmemektedir. Habeş maymunlarına damardan enjekte edilen saflaştırılmış Stx-1, EHEC aracılı HUS'a benzer histopatoloji ile böbrek hastalığına yol açmaktadır (58). Shiga toksini ribozomal RNA'nın ayrılmasını engelleyerek protein sentezini inhibe eder. EHEC'in bakteriyemiye neden olmadığı, kalın bağırsakta bakteri tarafından Shiga toksininin salındığı ve bu toksinin sistemik olarak yayılıp böbrek endotel hücrelerine zarar verdiği ve sonunda böbreğe zarar veren enflamatuvar mediatörlerin salınmasına aracılık ettiği düşünülmektedir. *E. coli*'de evrimsel olarak ilişkili iki Shiga toksini vardır (Shiga toxin 1 ve Shiga toxin 2). Her iki toksinin % 55 aminoasit dizisi benzerliği vardır. Shiga toksin 1'in, *Shigella dysenteriae*'nin Shiga toksininden farkı bir amino asitin farklılığına dayanmaktadır.

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

Hem insanlarda hem de hayvanlarda ishalin sık görülen bir nedeni olan enterotoksijenik *E. coli*'nin (ETEC), dünya genelinde 5 yaş altındaki çocuklarda 600 milyon ishal vakasına ve 800.000 ölüme neden olduğu tahmin edilmektedir (59). ETEC hafif sulu ishaller veya bazı durumlarda hızlı dehidratasyona bağlı olarak kolera benzeri yaşamı tehdit edebilecek ciddi hastalıklara yol açabilir. ETEC aracılı ishalin endemik olduğu bölgelerde 5 yaşın altındaki bebekler ve çocuklar en çok etkilenmektedirler. Gezici ishalinin en sık nedenlerinden biri endemik bölgelerde olan ETEC maruziyetidir.

Bu patojen için ana virülans faktörlerinden biri *Vibrio cholerae* toksinine yapısal ve fonksiyonel benzerliği olan ısıya duyarlı enterotoksindir (LT) (60). LT, klasik bir AB toksin alt birimi olan holotoksin yapısına sahiptir. B alt birimleri (bir

pentamer olarak) hücre yüzeyindeki GM1 ve GD1b gangliosidlerine bağlanır ve A alt birimi enzimatik olarak stimülatör G proteininin alt ünitesini ribozile eder. G proteini konakçı hücre adenilat siklazını düzenler ve LT aracılı gerçekleşen modifikasyon, kalıcı aktivasyona ve hücre içi cAMP seviyelerinde artışa yol açar. Bunun sonucunda toksik hücrelerin klorid iyon kanalları aktive olur, bağırsak lümeninde klorür iyon salgılanması artar ve sodyum ile klorür emilimi azalır. Yani sonuç olarak bağırsak ozmotik gradiyentini tersine çevirmekte ve bağırsak lümeninde net su kaybına neden olmaktadır. ETEC toksinleri terminal ince bağırsaktan salgılanmaktadır.

Enteroagregatif *E. coli* (EAEC)

EAEC, hem çocuklarda hem de yetişkinlerde kalıcı ishalin nedeni olarak giderek daha fazla tanınmakta ve aynı zamanda dünya çapında endemik ve epidemik diyare nedeni olarak kabul edilmektedir (61). EAEC ilk olarak kolonda kolonizasyon ile başlar ardından enterotoksinlerin ve sitotoksinlerin salgılanmasına neden olmakta ve sonuçta önemli mukozal hasara yol açmaktadır. Bu organizmalar LT enterotoksin veya Shiga toksinlerine sahip olmayan ancak klasik olarak “istiflenmiş tuğla” olarak adlandırılan kümelerle kültüre edilmiş HEp-2 hücrelerine bağlanmaktadır. Gerçekte birçok *E. coli* suşu "istiflenmiş tuğla" yapışkan fenotipine sahip olabilir, ancak bunlar arasında iyi seyirli insan ishal patojenleri olan alt gruplar bulunmaktadır. Enteroagregatif *E. coli* (EAEC) hastalığı gönüllü insanlar tarafından tarif edildiği üzere, bazı olgularda karın krampları olan ancak ateş olmayan sulu diyare şeklindedir (62). Kan dolaşımı invazyonu yoktur. Doğal EAEC salgınlarında görülen hastalık sıklıkla kalıcı, kronik sulu ishal olarak bildirilmektedir. Bu küçük salgınlar hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkmaktadır. Klinik laboratuvarlarda tanınmaları için yaygın EAEC serotipleri yoktur. EAEC hastalığının patogenezi izolatlarda bazı potansiyel virülans faktörleri yaygın olmasına rağmen iyi anlaşılabilmiştir. EAEC “aggregative adherence fimbriae”(“AAF”) olarak adlandırılan fimbrial bir adezin molekülü eksprese etmektedir. EAEC izolatları

sıklıkla “Pic” olarak adlandırılan bir müsinaz üretmektedir. EAEC suşları genellikle ETEC'in ST1 homologu olan ısıya dayanıklı bir enterotoksin olan EAST1 üretir.

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

EIEC biyokimyasal, genetik ve patojenik yönleriyle *Shigella türlerine* çok benzemektedir. Farklı çalışmalar *Shigella* ve *E. coli*'nin taksonomik olarak birçok özelliği paylaşmasından dolayı aynı türe ait olduğunu bildirmiştir (63). Aynı patojenite mekanizmalarına sahiptirler. Konak dokusunda invazyona neden olan plazmidler *Shigella* ve EIEC'in her ikisinde var olan önemli patojenite kriteridir.

Shigella ve EIEC arasındaki tanısal karışıklık *Shigella* izolatlarının hareketsiz ve çoğunun laktoz fermentasyonu yapmaması ile biraz olsun açıklığa kavuşmuştur. Ek olarak EIEC *Shigella* ile beraber diğer *E. coli*'lerde yaygın olmasına rağmen lizin dekarboksilat yapamama özelliğine sahiptir. EIEC'nin *E. coli* ile paylaştığı fakat *Shigella* ile paylaşmadığı özellikler arasında glikozdan gaz üretme ve ksilozun fermentasyonu yer almaktadır.

EIEC *Shigella* türlerinin neden olduğu hastalıkta olduğu gibi ateş ve şiddetli kramplarla kanlı ve mukuslu dışkılamaya neden olmaktadır. EIEC / *Shigella* esas olarak kalın bağırsak epitelini invaze eder. Hücrelerin içine girdikten sonra fagositik vezikülü lizise uğratıp konakçı hücre sitoplazmasında serbestçe çoğalırlar. Daha sonra EIEC/*Shigella* hücreleri komşu konakçı hücrelere aktin polimerizasyonun sağladığı itme kuvvetiyle yayılırlar (64). Hem EIEC hem de *Shigella*'da hücrel invazyon ve hastalık için gerekli olan genlerin çoğu büyük bir (> 200 kb) plazmid üzerinde taşınmaktadır. Bu plazmitlerde konakçı hücrelerde sinyalleme ve membran lizisi ile ilgili özelliklerin yayılımı için önemli olan tip III sekresyon gen sistemi bulunmaktadır. Ek olarak, plazmid bakterinin bir kutbuna yerleştirilmiş bir dış zar proteinini (IcsA) kodlamakta ve bu protein bakterilerin diğer konak hücrelere yayılması için gerekli olan aktin mikrofilament polimerizasyonunu yönlendirmektedir. EIEC / *Shigella* nadiren kan dolaşımını istila etmelerine rağmen

makrofajlarla etkileşip pro-enflamatuar mediatörlerin salınmasına ve hatta apoptozun indüklenmesine neden olan intestinal epitel altındaki lamina propriayı invaze edebilmektedirler. İlginç bir şekilde EIEC ve *Shigella*'nın ortak bir özelliği olan lizin dekarboksilaz testinin negatif olması, cadC genindeki mutasyon ve gen yeniden düzenlemelerinin sonucunda olmaktadır. Lizinin dekarboksilasyonu, iltihaplanma ve nötrofillerin lamina propriya göçünün inhibitörü olarak görev yapan cadverin oluşumuna yol açmaktadır. Bu fonksiyon eksikliğinin, EIEC / *Shigella*'nın hastalığa neden olmasına izin veren patoadaptif bir özellik olduğu varsayılmaktadır (65).

Diffüz adherent *E. coli* (DAEC)

DAEC, HeLa ve HEP-2 hücrelerine yaygın bağlanma afiniteleri ile tanımlanırlar. Hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde sulu ishal ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarından sorumludur. DAEC'in özellikle bir yaşından büyük çocuklarda diyare nedeni olduğu yaygın olarak bildirilmiştir (66). DAEC'in bir patojen olarak görece önemi ve hastalığa neden olma mekanizmaları daha fazla çalışma gerektirmektedir.

2.1.7. Ekstraintestinal Patojenik *Escherichia coli*

Bağırsak dışı enfeksiyonlara neden olan *E. coli* patotiplerine ekstraintestinal patojenik *E. coli* denilmektedir (ExPEC). Bunlar filogenetik ve epidemiyolojik olarak kommensal ve ishal etkenlerinden farklıdır (67). En sık görülen ekstraintestinal enfeksiyonlardan biri önemli morbiditeye, verimlilik kaybına ve artan sağlık bakım maliyetlerine neden olan idrar yolu enfeksiyonlarıdır (68). ExPEC neonatal menenjit ve yenidoğan sepsisinin önde gelen nedenlerinden biridir. Çeşitli cerrahi alan enfeksiyonlarına da neden oldukları bilinmektedir. Ekstraintestinal

hastalık patogenezi için kritik öneme sahip ve tüm *E. coli*'lerde ortak olan ek faktörler vardır. Başlıca faktörler lipopolisakkarit, kapsül üretimi ve tip 1 pilidir. Tip 1 pililer mesanenin ilk kolonizasyonunda özellikle kritik bir role sahiptir. Tip 1 pili'nin kültüre edilmiş üriner epitel hücrelerinin hücrel invazyonuna aracılık ettiği bilinmektedir (69).

Ekstraintestinal enfeksiyonlardan (ExPEC) sorumlu olan suşlar immünokompetan bireylerde hem hastane hem de toplum kökenli hastalıklara neden olabilmektedir. Genellikle bağırsak kanalını kolonize ederler ve başka bölgelere ilerleyene kadar tamamen asemptomatik bir denge kurarlar (70).

ExPEC idrar yolu enfeksiyonları (İYE) ve kan dolaşımı enfeksiyonlarının en sık nedenlerinden birini temsil etmektedir. Sağlık sistemi üzerine önemli bir finansal etkiye sahip olup, hem toplumda hem de hastane ortamlarında önemli bir rol oynamaktadır. ExPEC kolonizasyona, konak immun yanıtından kaçmaya yarayan ve inflamasyonu uyaran çok sayıda virülans faktöre sahiptir.

ExPEC'in patojen olarak yönetimi özellikle florokinolonlar, trimetoprim / sulfametoksazol dirençlerinin artması ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (ESBL) gibi direnç mekanizmalarının ortaya çıkması ve yayılmasıyla giderek daha da karmaşıklaşmaktadır.

Üropatojenik *E. coli* (UPEC)

Heterojen bir klon grubudur. UPEC gruplarında sistit, piyelonefrit ve ürosepsis izolatları bulunur. Bu suşlar toplum veya hastane kaynaklı *E. coli* enfeksiyonlarından kaynaklanan başlıca morbidite ve mortalite nedenleridir. Yetişkin kadınların yaklaşık % 60'ı yaşamları boyunca İYE geçirmektedir (71). Toplumdan edinilen tüm İYE'lerin % 90'ı ve hastaneden edinilen İYE'lerin % 30'undan fazlası *E. coli*'den kaynaklanmaktadır (72). Çok ilaca dirençli UPEC klonlarının neden olduğu idrar yolu enfeksiyonlarının toplum çapında salgınlar yaptığı bildirilmiştir (73).

Piyelonefrit olan ancak altta yatan tıbbi komplikasyonları olmayan kadınlardan izole edilen UPEC suşları sıklıkla spesifik O serotiplerine sahiptirler (O1, O2, O4, O6, O7, O18 ve O75) (74). Ayrıca bu *E. coli* suşları olağanüstü bir şekilde kan dolaşımına invaze olabilmektedirler. Bu suşlar için bilinen veya varsayılan virülans faktörlerinin çoğu fekal *E. coli* suşlarında yaygın olarak bulunmamaktadır. Bu gibi faktörlere örnek olarak adezinler (e.g., Pap, Sfa, and Dra), hemolisin (Hly), sitotoksik nekrotizan faktör-1 (CNF-1) ve aerobactin (Aer) demir tutma sistemleri verilebilir (75).

Menenjit ile ilişkili *E. coli*

Grup B streptokokların yanı sıra, menenjit ile ilişkili *E. coli* (MAEC), yenidoğan menenjitinin en sık görülen nedenleri arasında yer almaktadır. Yüksek mortalite oranına sahip ciddi bir hastalığa neden olmakta ve hayatta kalanlarda uzun vadeli nörolojik problemler oluşturabilmektedir. Bu hastalıkla ilişkili sınırlı sayıda *E. coli* serotipi vardır. Türlerin % 80'inden fazlası K1 kapsülü eksprese etmektedir (76). Genel olarak yenidoğanın K1 suşunu doğum kanalı içinden geçerken annesinden aldığı düşünülmektedir. Suşlar daha sonra aşamalı olarak önce kan dolaşımını istila etmekte ve daha sonra endotel yüzeylerinden beyne geçmektedir. K1 kapsülü kan beyin bariyeri üzerindeki invazyonda kritik bir belirleyicidir. Bir sıçan yavru modelinde suşların meningeslerde hayatta kalması için kapsülün gerekli olduğu kanıtlanmıştır (77). S-fimbria K1 izolatlarının beyin mikrovasküler endotellerine yapışmasını sağlamaktadır. Endotel hücre invazyonu için *ibeA*, *ibeB*, *ibeC*, *cnf-1* ve *aslA* gibi çeşitli genler ve ekspresyonları gereklidir (78).

2.1.8. *E. coli*'de Direnç Mekanizmaları

Antimikrobiyal direnç gittikçe artan büyük ve küresel bir sağlık sorunudur. Penisilinin ilk kullanıma girmesinden itibaren bakterilerin çoğu antibiyotiklere direnç geliştirmeye başlamış ve bunu diğer türlere de iletme yeteneklerini geliştirmişlerdir. Antimikrobiyal ajanların artan tüketimi ve uygun olmayan kullanımları bu fenomeni daha da hızlandıran faktörler arasındadır. Ayrıca, uluslararası turizm ve iş seyahatleri gibi ülkeler arasında insanların sürekli göç etmesi çok ilaca dirençli türlerin edinilmesinde ve yayılmasında önemli bir rol oynamaktadır.

Antimikrobiyal dirence ayrıca hayvanlarda bulaşıcı hastalıkların tedavisi ve profilaksisi yapılırken de rastlanmıştır (79). İnsanlarda olduğu gibi antimikrobiyal kullanımı hem patojenik hem de endojen bakterilerde artan bir direnç insidansına yol açmaktadır. Hayvanlarda ki dirençli bakteriler insanlara doğrudan temas yoluyla olduğu gibi hayvansal kaynaklı gıda ürünleri yoluyla da bulaşabilmektedir. Çoklu ilaca direnci, bakterilerin intrinsik direnç göstermediği üç veya daha fazla antimikrobiyal sınıfa direnç olarak tanımlanır. Çok dirençli suşlar temel olarak plazmidler, integronlar ve transpozonlar dahil mobil genetik elemanlarda bulunan genlerin yayılması yoluyla dünya genelinde artış göstermektedir. Ayrıca bu genlerin kromozomal olarak kodlanmış direnç genleri ile kombinasyonu, sıklıkla mevcut tüm antimikrobiyal sınıflara dirençli bakterilerin oluşumuyla sonuçlanır.

E. coli memelilerde her yerde bulunan ve antibiyotik direncinin yayılımı ile ilgili ipuçları sağlayabilen bir gösterge olarak kabul edilmektedir (80). *E. coli*, klinik uygulamaya sokulan ilk β -laktam olan penisilin G'nin terapötik seviyelerine dış membran bariyeri nedeniyle dirençlidir. *E. coli* ayrıca farklı etki mekanizmalarına sahip farklı antibiyotik sınıflarına da dirençlidir.

E. coli'de β -laktamaz üretimi, β -laktam antibiyotiklere karşı geniş spektrumda dirence neden olan en önemli faktördür. β -laktamazlar sıklıkla plazmitler üzerinde kodlanan ve genel olarak en çok *Enterobacteriaceae* ve özellikle de *E. coli* tarafından üretilen geniş bir enzim sınıfını oluşturmaktadır. β -laktamaz üreten bakteriler penisilinlere ve sefalosporinlere direnç gösterebilmektedir ve Gram negatif

bakterilerde çoklu ilaç direncinin ortaya çıkmasının bir nedenidir. ESBL'ler üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinler ve monobaktamlar dahil olmak üzere birçok antibiyotiğe direnç gösterebilmektedirler. *CTX-M-1* kümesi şu anda tüm dünyada en yaygın olanıdır ve *CTX-M-15* en çok tanımlanan değişkendir (81). Avrupa'da *CTX-M-14* ve *CTX-M15* tipleri insanlar arasında yaygın olarak bulunmaktadır (82).

Enterobacteriaceae'daki karbapenem direnci, temel olarak plazmid üzerinde kodlanan karbapenemazların neden olduğu yeni ortaya çıkan bir sorundur. Bu enzimler bugüne kadar çoğunlukla *Klebsiella pneumoniae* ve *E. coli*'nin nozokomial izolatlarında bulunmuştur (83).

E. coli ayrıca sıklıkla ESBL genleriyle birlikte gözlenen (floro) kinolon direnci de göstermektedir. Bakterilerde florokinolon direnci hem kromozomal hem de plazmid aracılığı ile kodlanmış genler tarafından kazanılabilmektedir. Florokinolon direncine neden olan *qnr* ve *aac (6')* *Ib-cr* genleri sıklıkla *bla CTX-M-14* ve *bla CTX-M-15* olmak üzere β -laktam direnç genleriyle ilişkilendirilmiştir (84).

Aminoglikozitler bakteriyel 30S ribozomal alt birimleri içindeki 16S rRNA'nın aminoaçil bölgesine bağlanan ve protein sentezini inhibe edici etkiye sahip bakterisit antibiyotiklerdir. Son birkaç yılda 16S rRNA bölgesinin metil transferaz enzimleriyle değiştirilmesi bu antimikrobiallere karşı ciddi bir tehdit oluşturmuştur. Özellikle endişe verici olan tüm aminoglikozitlere dirence neden olan ve genellikle aynı mobil genetik element üzerinde karbapenemaz genleri ile birlikte bulunan 16S rRNA metil-transferaz *armA* genidir (85).

2.1.9. *E. coli* Direnç Epidemiyolojisi

Avrupa'da invaziv Gram negatif izolatların çoğunluğunda özellikle de *E. coli*'de antimikrobiyal direnç oranı artma eğilimi göstermektedir (85).

Çevre, antimikrobiyal direncin yayılmasında kilit bir rol oynamakta ve antimikrobiyal direnç genlerinin sınırsız bir rezervuarı olarak görev almaktadır. Bu nedenle *E. coli* çevresel bakterilerden diğer ilaç direnç özelliklerini kazanabilmekte

ve farklı ortamlardaki potansiyel patojenlere yayabilmektedir. Hastane atıkları çok dirençli *E. coli* suşlarının kaynağı olabilmektedir. Birçok çalışma hastane atıklarında çok dirençli türlerin bulunduğunu ve bu durumun belediye kanalizasyon sistemlerinde ve çevrede antibiyotik direnç genlerinin yayılmasına katkıda bulunduğunu göstermiştir (86).

Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi'nin yapılan yıllık surveyans raporunda (ECDC, data 2011), analiz edilen tüm ülkelerde üçüncü kuşak sefalosporinlere, florokinolonlara ve aminoglikozitlere dirençli izolatların ve her üç antimikrobiyal ilaca dirençli suşların bulunduğu bildirilmiştir (85).

Türkiye %25.2 ESBL-pozitif suş oranı ile en yüksek yüzdeye sahip ülke olarak tespit edilmiştir (87). Türkiye'de florokinolon direnci ile ilgili çalışmalar da bildirilmiştir (88). İzolatlar arasında *qnr* genlerinin prevalansı düşük olmakla birlikte, bu suşların yüksek direnç oranlarına sahip oldukları tespit edilmiştir (89).

2.1.10. *E. coli* Salgınları

E. coli ile ilişkili enfeksiyonların epidemiyolojisi, dahil olan suşun tipine bağlı olarak büyük ölçüde değişmektedir. Avrupa'da son yıllarda *E. coli* salgınları temel olarak çeşitli EHEC suşları tarafından meydana gelmiştir.

Shiga toxin-üreten *Escherichia coli* (STEC) O104: H4 son yıllarda çok sayıda salgından sorumlu olmuştur (90). Avrupa'da 2011 baharında yeni bir *E. coli* O104: H4 serotipi, özellikle Almanya'da yaklaşık 4.000 kişiyi enfekte etmiş, 900'den fazla HUS vakası bildirilmiştir. Bu özel patojenin hem EAEC hem de EHEC suşlarının virülans faktörlerinin bir kombinasyonunu gösterdiği tespit edilmiştir. Mevcut salgın suşuna benzer bir suş daha önce Gürcistan Cumhuriyeti'nde izole edilmiştir (91). Farklı zamanlarda çeşitli Avrupa ülkelerinde HUS vakaları bildirilmiştir (Data 2010) (92). Tanımlanan yaygın serogruplar O157 (EHEC O157: H7 serotipi HUS'un baskın nedenidir) ve O26'dır.

E. coli O25b: H4 / ST131 (sekans tip 131) serotipi ilaçlara dirençli yaygın bir ExPEC suşu olup, esasen idrar yolu enfeksiyonları olmak üzere geniş bir hastalık yelpazesine neden olmaktadır (93). *E. coli* O25b: H4 / ST131, Avrupa'da özellikle de İspanya ve İtalya'da yaygın olarak görülmektedir (81).

2.1.11. *E. coli* Enfeksiyonlarının Önlenmesi ve Kontrolü

Genel olarak, *E. coli*'nin yayılmasının önlenmesi ve kontrolüne yönelik stratejiler arasında güvenli suya erişim, gıda kirliliği riskini azaltmak için iyi kullanım uygulamaları, sağlık önlemleri, halk eğitimi ve aşılama yer almalıdır (94).

Güvenli suya erişim, *E. coli* enfeksiyonlarının önlenmesinde ana hedeftir. Bu sorun Avrupa ülkelerini doğrudan etkilemese de, dünya genelinde yüz milyonlarca insan hala gelişmiş su kaynaklarına erişememektedir (WHO / UNICEF Su Temini ve Sanitasyonu Ortak İzleme Programı). Gıda ürünlerinden kaynaklanan enfeksiyonları önlemeye yönelik önlemler arasında uygun depolama ve uygun pişirme ısıları yer almaktadır. Yüksek riskli ürünlerdeki bakteri yükünü büyük ölçüde azaltmak için gıda ışınlama teknolojisi kullanılabilir. Ancak gıda ışınlamasının hijyen ve sağlık uygulamalarının, gıdanın uygun üretim veya tarım uygulamaları yerine kullanılmayacağı bildirilmiştir.

Çok dirençli patojenlerin yayılma riskini sınırlayan hastane önlemleri arasında, sıkı hijyenik standart protokolleri uygulama ve aynı zamanda antimikrobiyal ilaçların kullanımı üzerinde kontrol uygulayarak çapraz kontaminasyonun önlenmesi bulunmaktadır (95). Patojenlerin yayılmasında etkili ana araçlar, hastane çalışanlarının elleri ve tıbbi cihazlardır. Uygun el hijyeni çapraz bulaşmanın önlenmesi için kritik öneme sahiptir.

Antibiyotikler insanlarda ve hayvanlarda *E. coli* enfeksiyonlarının kontrolü ve tedavisi için şarttır. Bununla birlikte genel olarak antimikrobiyal direncin antibiyotik tüketiminin miktarı ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Antimikrobiyallerin

uygunsuz ve yanlış kullanımı, normal insan bakteriyel florasının yanı sıra patojenlerde de direnci arttırmaktadır. Hayvan rezervuarları da dirençli suşların önemli kaynaklarıdır. Ayrıca, geniş antimikrobiyal rejimlerin kullanımı antibiyotiklerin ve antibiyotik direnç genlerinin çevresel olarak salınmasına ve sonuçta dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Direnç genlerinin çevresel salınımının etkileri iyi çalışılmamıştır. Antibiyotik kirliliği dünya genelinde direnç özelliklerinin yayılmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu nedenle rasyonel ve akılcı antibiyotik kullanımı, dirençli bakterilerin ortaya çıkmasının ve bulaşmasının önlenmesi için ön şarttır. Ayrıca antibiyotik kullanımının izlenmesi ve sürveyansı için uygun stratejiler geliştirilmesi direncin kontrolü ve muhafazası, bakteri popülasyonlarındaki değişikliklerin kontrolü ve uygun terapötik stratejilerin oluşturulması için gereklidir. Son olarak, antimikrobiyallerin çevreye salınması ile ilişkili risklere daha fazla önem verilmelidir.

Probiyotikler, çeşitli *E. coli* enfeksiyonlarının profilaksisinde iyi bir yaklaşım olabilir. Probiyotikler, temel olarak bağırsak kanalını kolonize edebilen ve böylece patojenik bakterilerle rekabet edebilen *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsine ait, canlı ve güvenli mikroorganizmalardır. Gastrointestinal enfeksiyonların önlenmesi veya tedavisi için probiyotiklerin potansiyel kullanımı üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Enfeksiyöz diyarenin probiyotiklerle tedavisi ishal oranlarını azaltarak yararlı etkiler göstermiştir (96). Probiyotiklerin Crohn hastalığı da dahil olmak üzere enflamatuvar bağırsak hastalıklarına etkileri üzerine yapılan araştırmalarda yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (97). Sağlıklı insanlarda mikrobiyotanın bir parçası olan *Lactobacillus*'un probiyotik olarak kullanımı İYE ve vajinal enfeksiyon riskini azaltmaktadır (98).

Aşı insan için ETEC, UPEC ve NMEC gibi en zararlı suşlara karşı önemli bir önleme stratejisi olabilir. Bugüne kadar, bu enfeksiyonların önlenmesi için henüz etkili bir aşı geliştirilememiştir. ETEC'e karşı aşı geliştirme, hem gelişmekte olan ülkelerde hem de seyahat edenlerde enfekte olmuş çok sayıda insan göz önüne alındığında hala küresel bir önceliklidir. ETEC suşlarına karşı koruyucu stratejilerin geliştirilmesi zor olmuştur. Bununla birlikte, ETEC endemik alanlarını ziyaret ederken gezginleri korumak ve gelişmekte olan ülkelerde çocukların sağlığı üzerinde

önemli bir etkiye sahip olabilecek etkili bir aşı elde etmek için bazı çalışmalar devam etmektedir (99). Bazı ülkelerde ETEC türlerine karşı kısa süreli koruma sağlamak ve ısıya dayanıklı anti toksin üzerinden bağışıklık sistemini uyarmak için kolera aşısı kullanılmıştır (100).

Komplike olmayan İYE'nin yaklaşık % 80'ine UPEC neden olmaktadır ve bu tür bir hastalığın yıllık ekonomiye etkisi, temel olarak tıbbi bakım ve verimlilik kaybı ile ilgili maliyetler nedeniyle çok yüksektir. Ayrıca, antibiyotik tedavisinden sonra hastalık nüksü nadir değildir. Bütün bu düşünceler etkili UPEC aşısı için devam eden bir araştırmayı teşvik etmektedir (101).

2.1.12. *E. coli*'de Alternatif Tedaviler

Çok ilaca dirençli bakterilerin dünya çapında ortaya çıkması, bu patojenlere karşı etkili antibiyotik sayısını büyük ölçüde sınırlamıştır. Bu problem, yeni antibiyotik sınıflarının azlığı ile daha da artmıştır. Bu nedenle, bulaşıcı hastalıklar için yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesi büyük talep görmektedir. Buna cevaben faj terapisi, antimikrobiyal peptid terapisi ve iki veya daha fazla antibiyotik kombinasyonu gibi birkaç yeni terapi geliştirilmiştir (102). Şimdiye kadar elde edilen sonuçlar, faj tedavisinin *E. coli* enfeksiyonlarına karşı gelecekte umut vaat ettiğini göstermektedir.

2.2. *Klebsiella* Cinsi Bakteriler

Enterobacteriaceae ailesindeki *Klebsiella* ismi, Alman mikrobiyolog Edwin Klebs (1834-1913) 'e ithafen Trevisan (1885) tarafından verilmiştir. Tip türü *Klebsiella pneumoniae*'dir (103). *Klebsiella* türleri ilk olarak rinoskleromalı hastalardan elde edilmiş ve kapsüllü bir basil olarak tanımlanmıştır (104).

Organizmaya ilk olarak Trevisan tarafından “*Klebsiella rhinoscleromatis*” adı verilmiştir (1887). Abel (1893) ozena'lı hastaların nazal sekresyonundan kapsüllü bir basil olan “*Bacillus mucosus ozaenae*” yi tanımlamıştır (105).

2.2.1. İnsanlarda *Klebsiella* Patojenitesi ile İlgili Özellikler

Klebsiella'nın dört bileşeni olan adhezinler, kapsüler polisakkaritler, lipopolisakkarit (LPS) ve demir tutucu sistemler (sideroforlar) uzun zamandır patogeneizde rol oynayan yapılardır. *K. pneumoniae* hücre dışı bir patojen olarak kabul edilmesine rağmen, mesane ve ileoçekumdan elde edilen kültüre insan epitel hücrelerinde invazyon yaptığı bildirilmiş ve kapsülün adezyon ve invazyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir (106).

O-antijen biyosentez enzimleri rfb lokusunda kodlanmaktadır. Bugüne kadar O1, O2, O3, O4, O5, O8 ve O12 serotipleri ile ilişkili *K. pneumoniae* için yedi O antijen kümesi ve rfb O-antijen biyosentez yolu tanımlanmıştır (107).

K. pneumoniae enfeksiyonlarının şiddetinde önemli rol oynayan virülans faktörleri kapsüler polisakkaritler ile tip 1 ve tip 3 pililerdir. Bu faktörler agregatif adezyon ve sideroforlarla ilişkilendirilmiştir (5).

Kapsüller, *Klebsiella*'nın virülansı için önemlidir. Bakteriyel yüzeyi örten fibrillous yapıları oluşturan kapsüler materyal bir yandan bakteriyi fagositozdan korumakta diğer yandan bakterilerin bakterisid serum faktörleri tarafından öldürülmesini engellemektedir.

Tip 1 ve tip 3 pili (fimbria olarakta bilinir) polimerik globüler protein alt birimlerinden (pilin) oluşan, genellikle bakteri yüzeyinde saptanan flajellar olmayan filamentli fimbriyal adhezinlerdir (108). Eritrositleri aglutine etme yetenekleri temelinde ve reaksiyonun D mannoz ile engellenip engellenmediğine bağlı olarak bu adhezinler mannoz-duyarlı (MSHA) veya mannoz-dirençli hemaglutininler (MRHA) olarak tanımlanmaktadır (109).

2.2.2. *Klebsiella* Kapsüler Polisakkarit Özellikleri

K. pneumoniae için en az 78 kapsül (K antijeni) serotipi tanımlanmıştır. *K. pneumoniae*'nin birkaç serotipi (baskın olarak K1 ve K2 dahil) en önemli virülans faktörleri arasında yer almaktadır. Kapsüler polisakkarit (CPS) üretiminin artmasına bağlı olarak agar plaklarında hipermukovisköz koloniler oluşturacak tarzda üreme göstermektedirler. String testi ise, agar plağı üzerindeki kolonilerin öze ile çekildiğinde uzunluğu 5 mm'den daha fazla olan visköz bir ip oluşturabilmesi temeline dayanmakta ve hipermukoviskozitenin varlığını göstermektedir (110). Mukoidlik derecesinin invaziv enfeksiyonların başarılı bir şekilde yerleşmesi ile ilişkili olduğu görünmektedir. Fakat hipervirulan suşlarda kapsül hipersekresyonu olup olmadığı tartışmalı olup gözlenen artmış polisakkarit miktarı CPS şekerlerinden ziyade bazı ekzopolisakkaritlerle ilişkili olabilir.

Hipervirulan *K. pneumoniae* oldukça invaziv olup immunkompetan bireyleri etkileyebilmekte, piyojenik karaciğer absesi, menenjit, nekrotizan fasiit, endoftalmi ve şiddetli pnömoni gibi yaşamı tehdit eden ve sıklıkla toplum kökenli enfeksiyonlara neden olabilmektedir (110). Özellikle metastatik enfeksiyonlarla komplike hale gelen K1/K2 kaynaklı piyojenik karaciğer apseleri son yirmi yılda dünya çapında ortaya çıkmıştır (33). Bir organdan diğer organlara metastatik olarak yayılma yeteneği hipermukovisköz *K. pneumoniae*'nin karakteristik özelliği olup konakçı immün savunmasının varlığında enterik Gram-negatif basillerde nadir olarak görülmektedir.

2.2.3. *Klebsiella* Kökenlerinde Fagositoza Karşı Direnç

Hücre yüzeyinde kalın bir kapsülün varlığı, *K. pneumoniae*'yi makrofajlar, nötrofiller, epitelyal hücreler ve dendritik hücreler (DC'ler) tarafından opsonizasyon ve fagositozdan korumakta ve bağlanma ile birleşmeyi bloke etmektedir. Hipervirulan *K. pneumoniae* K1 suşu hipervirulan olmayan suşlar ile

karşılaştırıldığında makrofajlarla daha düşük seviyelerde etkileşim göstermektedir. Burada K1 kapsüller polisakkaritte (CPS) glukuronik asidin olağan dışı yaygın pirüvasyonu ve fukozun C2-OH (veya C3-OH) asetilasyon özelliğinin fagositozu önlemek için *K. pneumoniae*'ye yardımcı olduğu düşünülmektedir (111). Ayrıca hipervirulan *K. pneumoniae* K1 suşları nötrofiller tarafından fagosite edildikten sonra nötrofil aracılı hücre içi öldürülmeden sürekli kaçarak karaciğer gibi uzak bölgelerde apse oluşumuna neden olabilmektedirler.

2.2.4. *Klebsiella* Kökenlerinde Erken Enflamatuvar Yanıtın Baskılanması

Hava yolu epitel hücreleri patojenler tarafından eksprese edilen molekülleri tanımak için Toll-like reseptörler (TLRs) üretir, bu da insan β -defensinleri (hBDs) ve ko-stimülatör moleküller gibi antimikrobiyal moleküllerin üretimi için sinyal yollarını aktive eder ve sitokinler ile kemokinler serbest bırakılır. Mekanik olarak CPS'nin antienflamatuvar etkisi ile TLR2 ve TLR4 sinyalleri ve NOD1'e bağlı yollar inhibe edilmekte buda IL-8 ekspresyonunun inhibisyonu ile sonuçlanmaktadır (112).

2.2.5. *Klebsiella* Suşlarında Antimikrobiyal Peptidlere Karşı Direnç

K. pneumoniae'nin hücre yüzeyindeki CPS'si konakçı kökenli antimikrobiyal peptitlerin erişimine karşı koruyucu bir kalkan görevi görür. Bakteri hücrelerinden salınan serbest CPS, bakteriyel yüzeye ulaşan antimikrobiyal polipeptitlerin miktarını azaltmak için antimikrobiyal polipeptitleri yakalayabilir. Ayrıca hava yolunda antimikrobiyal peptitlerin subletal konsantrasyonları cps gen ekspresyonunu indüklemekte bu da bakterileri antimikrobiyal polipeptitlerin etkisine karşı korumaktadır (113). Hava yolu epitel hücreleri tarafından üretilen hBD'ler güçlü antimikrobiyal peptitlerdir. HBD1 yapısal olarak ifade edilirken, hBD2 ve hBD3

ekspresyonu patojenler ve proinflamatuvar sitokinler tarafından uyarılabilir (114). *K. pneumoniae*'ye bağı CPS, hBD2 ve hBD3'ün ekspresyonunu azaltır. Bunu da TLR'ye bağı tepkileri önleyerek ve hBD ekspresyonunun negatif düzenleyicileri olarak hareket eden CYLD ve MKP-1 ekspresyonunu uyararak gerçekleştirmektedir (115).

2.2.6. Klebsiella Suşlarında Biyofilm

K. pneumoniae'nin 1980'lerin sonundan beri in vitro koşullarda biyofilm üretimi gerçekleştirebildiği gösterilmiştir (116). İn vivo olarak biyofilm tabakasında bulunduğu ise Reid ve arkadaşları tarafından, spinal kord yaralanması olan ve *K. pneumoni*'nin etken olduğu asemptomatik üriner sistem enfeksiyonu olan bir hastada bazı mesane epitel hücrelerinin elektron mikroskopik tarama ile gösterimiyle saptanmıştır (117).

Daha sonra yapılan in vitro çalışmalar *K. pneumoniae* izolatlarının % 40'ının sadece idrardan değil aynı zamanda balgam, kan ve yara swablarından izole edildiğini ve biyofilm ürettiğini göstermiştir (118). Bunun yanı sıra üriner sistem enfeksiyonu olan ve üriner kateteri olan hastalardan elde edilen *K. pneumoniae* izolatlarının %63'ünün in vitro olarak biyofilm üretebildiği belirlenmiştir (119). Son zamanlarda ventilatör ilişkili pnömoniden (VAP) etkilenen hastaların endotrakeal tüplerinden (ETT) izole edilen *K. pneumoniae* suşlarının in vitro ortamda yüksek oranda biyofilm oluşturduğu bildirilmiştir (120).

2.2.7. Klebsiella Türlerinde Biyofilm ile Virülans İlişkisi

Tip 1 veya tip 3 fimbrialar ile kapsül ve LPS, *K. pneumoniae*'nin biyofilm yapma yeteneğini arttıran virülans faktörleridir. Tip 3 fimbriaların biyotik ve abiyotik

yüzeyler üzerinde biyofilm oluşumuna neden olan ve endotelial ile mesane epitelyal hücre hatlarına bağlanmaya aracılık eden başlıca uzantılar olduğu gösterilmiştir (121).

Kapsül ve LPS'nin *K. pneumoniae*'nin biyofilm yapısına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Çalışmalarda LPS'nin abiyotik yüzeyler üzerinde ilk yapışmada rol oynadığı ve kapsülün substratumunun düzgün bir şekilde kaplanması ve olgun biyofilm mimarisinin inşası için gerekli olduğu gösterilmiştir (122).

Ancak CPS üretiminin biyofilm oluşumu ile ilgili çelişkili sonuçlar elde eden çalışmalarda bulunmaktadır (2014). Biyofilm üretimini etkileyen iki önemli mutasyon tanımlanmıştır. Bunlardan ilki hücre dışı kapsüller polisakkarit biosentezinden sorumlu olan tüm genlerde görülen delesyonlar iken diğeri kapsülün dışı atım sisteminde görülen delesyonlardır. Bu delesyon görülen suşlarda düşük miktarda kapsül oluşumu gözlenirken yüksek miktarda biyofilm üretimi olduğu tespit edilmiştir (123).

Antimikrobialerin *K. pneumoniae* biyofilmine nüfuz etme konusunu ele alan ilk çalışmalardan biri 2000 yılında yapılmıştır. Burada bir in vitro model sistemi kullanılarak ampisilin ve siprofloksasinin agar besiyerinde mikro gözenekli membranlarda gelişen biyofilmdeki *K. pneumoniae* üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir. *K. pneumoniae* biyo-filmeleri her iki antibiyotige uzun süreli maruziyete rağmen yok edilememiştir. Antibiyotiklerin difüzyonu ölçülmeye çalışıldığında ampisilin doğal ortamdaki *K. pneumoniae* biyo-filmelerine penetre olamadığı, oysa siprofloksasin ve nonreaktif bir maddenin (klorür iyonu) biyo-filmelere hızlıca penetre olabildikleri gösterilmiştir. Ampisilin yalnızca β -laktamaz üretemeyen bir mutant olduğunda biyo-filmelere nüfuz edebildiği bu nedenle hem doğal tip hem de mutant *K. pneumoniae* biyo-filminin ampisilin ve siprofloksasine karşı artan direncinin yavaş difüzyona bağlanamayacağı gösterilmiştir (124).

Piperasilin, piperasilin tazobaktam, sefoperazon, seftazidim, sefepim, meropenem, siprofloksasin, netilmisin ve amikasin de dahil olmak üzere bir dizi başka antibiyotik de *K. pneumoniae* biyo-filmde değerlendirilmiş ve adeziv

bakteriyel popülasyonların adezif olmayanlara göre antimikrobiyal duyarlılığının azaldığı doğrulanmıştır (125). Aksine 2009 yılında tetrasiklin ve kloramfenikolün beş kat MİK değerlerinde, *K. pneumoniae* biyofilmlerini farklı düzeylerde de olsa (sırasıyla, $p < 0.05$ ve $p < 0.01$) etkilediği gösterilmiştir. Bu antibiyotiklerin her ikisi de bakteri ribozomu üzerinde etkili olan protein sentez inhibitörleri şeklinde etki etmektedir (126).

K. pneumoniae biyofilminin siprofloksasin, amikasin ve piperasiline karşı daha yüksek direnci orta-log ve durağan fazlarda test edilerek doğrulanmıştır. *K. pneumoniae*'nin biyofilm oluşturması tüm antibiyotiklere daha dirençli olması ile sonuçlanmıştır. Amikasin ve siprofloksasinin yeni ve daha eski biyofilmler üzerindeki etkisi en yüksek serum konsantrasyonları kullanılarak incelenmiş, amikasinin yeni biyofilmleri ortadan kaldırdığı ancak biyofilm eskidikçe tamamen etkisiz kaldığı gözlenmiştir. Kalkoflor boyaması ile yapılan boyamada daha eski biyofilmlerde büyüme sırasında ekzopolisakkarit üretiminin arttığı ve direncin buna bağlı olabileceği gözlenmiştir (127). Gentamisin dirençli izolatlar biyofilmlerde ürediklerinde dirençlerini önemli ölçüde arttırırken (234 katına kadar) gentamisin duyarlı suşlar ise biyofilmde de duyarlılıklarını korumaktadır. Bu durum gentamisin duyarlı suşların biyofilmlerdeki izolatlarını tedavi etmek için gentamisinin kullanılmasını desteklemektedir (128). Yakın zamanda tavşan kulağı yara modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada imipenemin in vitro ve in vivo *K. pneumoniae* biyofilmlerine karşı güçlü bir aktivite gösterdiği görülmüştür (129).

2.2.8. Çeşitli *Klebsiella* Türleri

K. pneumoniae veya *K. oxytoca* suşlarının nozokomiyal enfeksiyonlara yatkınlık yaratan özellikleri arasında ileri yaş, kronik alkolizm, diabetes mellitus, kronik kardiyak, renal, pulmoner ve neoplastik hastalıklar sayılabilir. *Klebsiella* ile enfeksiyonların esas olarak *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* tarafından 2 ila 1 veya 4 ila 1 oranlarında olduğu tahmin edilmektedir. *Klebsiella pneumoniae* enfeksiyonlarının

çoğuna Kp I filogenetik grubu suşları neden olmaktadır. Fakat Kp II ve Kp III grupları da önemlidir (130). *K. planticola* ve *K. terrigena* ile enfeksiyonlar uzun süredir tesadüfi olarak kabul edilmiş, ancak bunun nedeninin tanımlama güçlüklerine bağlı olabileceği bildirilmektedir. Aslında bazı çalışmalar *K. planticola* ve daha az ölçüde *K. terrigena*'nın klinik enfeksiyonlarda nadir olmadığını göstermektedir (131). *Klebsiella planticola* yeni doğanlardan izole edilmiştir (132). *Klebsiella planticola* ve *K. ornithinolytica*'nın da doğrudan histamin artışı ile seyreden balık zehirlenmelerinde rol oynadığı bildirilmiştir (133).

Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis klasik olarak burundaki kronik granülomatöz bir hastalık olan rinoskleroma ile ilişkilidir. Bu hastalık Afrika, Doğu ve Orta Avrupa, Güney ve Orta Amerika'da endemiktir (134).

Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae hoş olmayan bir kokuya sahip atrofik rinit ile karakterize ozena hastalığı ile ilişkili olarak kabul edilmektedir. Son 10 yılda birçok çalışmada *K. ozaenae*'nin (şimdi *K. pneumoniae subsp. ozaenae*), özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış konakçılarda bakteriyemi, menenjit, otitis, mastoidit, idrar yolu enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, kornea ülserleri, pnömoni veya beyin apsesi gibi invaziv enfeksiyonlara neden olabileceği bildirilmiştir. Ancak bu vakaların çoğunda *K. pneumoniae subsp. ozaenae* kapsüler tiplendirme doğrulaması yapılmadan sadece ticari tanımlama kitlerinin yardımı ile tanımlanmıştır.

Klebsiella granulomatis (eski adı *Calymmatobacterium granulomatis*) cinsel yolla bulaşan bir genital ülserasyon olan granüloma inguinalenin (donovanosis) nedenidir. Histolojik özellikleri arasında plazmositlerin yoğun dermal infiltratı, nötrofiller ve hücre içi basil içeren vakuolize sitoplazmalı büyük makrofajlar (Donovan cisimcikleri) bulunur. Bir çalışmada her iki türün *K.pneumoniae*'ye olan yakın genetik ilişkisine paralel olarak donovanosis ve rinoskleromanın histolojik lezyonlarının benzerliğine işaret edilmiş, ancak bu türlerin patojenik özelliklerinin ortak bir evrimsel kökene sahip olup olmadığı henüz bilinmemektedir (135).

2.2.9. İnsanlarda *Klebsiella* Enfeksiyonları

Enterobacteriaceae familyasının bir üyesi olan *Klebsiella pneumoniae* belirgin bir kapsülle çevrili, çubuk şeklinde, Gram-negatif, laktoz fermentasyonu yapabilen bir basildir. Tipik *K. pneumoniae* ağız, cilt ve bağırsaklarda, hastane ortamlarında ve tıbbi cihazlarda yaygın olarak bulunan fırsatçı bir patojendir. Fıratçı *K. pneumoniae* çoğunlukla bağışıklık sistemi zayıf olan veya diğer enfeksiyonlarla zayıflamış bireyleri etkilemektedir. Gastrointestinal kanalın fırsatçı *K. pneumoniae* tarafından kolonizasyonu genellikle hastane kaynaklı enfeksiyonların gelişmesinden önce meydana gelir. *K. pneumoniae* kolonizasyonu ayrıca idrar yolu, solunum yolu ve kanda da meydana gelebilir. Tıbbi cihazlarda (örn, kateterler ve endotrakeal tüpler) oluşan *K. pneumoniae* biyofilmleri kateterize hastalarda önemli bir enfeksiyon kaynağı oluşturur.

Son çalışmalarda HIV ile enfekte kişilerde kronik diyare ile birlikte *K. pneumoniae* bakterisinin ilişkili olduğu görülmüştür. Enteropatojenik suşlar HEp-2 hücrelerine agregatif adezyon göstermekte, fakat patojenik *E. coli* suşlarının patojenliğinde rol oynadığı bilinen virülans faktörlerini barındırmadıkları tespit edilmiştir (136).

Aktif ankilozan spondilit hastalarının bağırsak florasında yüksek *Klebsiella* spp. insidansının saptanması bakterinin bu hastalıkla ilişkili olabileceğini göstermiştir (137). Etkilenen hastaların % 70-90'ının HLA-B27'ye (Kafkasyalılarda % 10'dan az bulunan bir fenotip) sahip olması dikkat çekicidir. *K. pneumoniae* K43 ve insan HLAB27 antijenleri arasındaki benzerliğin artrit gelişiminden sorumlu olabileceği bildirilmiştir (138).

Klebsiella pneumoniae bazen "Friedländer's bacillus" veya Friedländer'in pnömonisi olarak adlandırılan, kronik alkoliklerde gözlenen (139) ve ciddi piyojenik enfeksiyona bağlı karakteristik radyografik özelliklere sahip toplum kökenli pulmoner enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Tüm kapsül tipleri akut pnömoni ile ilişkili değildir. En sık K1 izole edilir, ancak K2, K3, K4, K5 ve K6 da ilişkili olabilir (140). Toplum kökenli *Klebsiella* pnömonisi prevalansı hakkındaki son veriler sınırlı

sayıdadır, ancak Friedländer'in pnömonisi Batı dünyasında nadir görülmektedir (141). Taşıyıcılık insanlarda bağırsaklarda sık görülürken, nazofarenkste de daha az sıklıkta görülmektedir. *Klebsiella spp.* fekal materyalde önemli bir oranda bulunmaktadır. Genel olarak *Klebsiella spp.* ile kolonizasyon hastanede uzun kalış ve antibiyotik kullanımı ile artmaktadır. Sağlık çalışanlarının da yüksek oranda *Klebsiella* taşıyıcılığına sahip olmaları mümkündür. *Klebsiella* enfeksiyonlarının ana rezervuarının taşıyıcılar olduğu kabul edilmektedir.

Yüksek patojenik özelliklerinden dolayı antibiyotik öncesi dönemde *K. pneumoniae* özellikle alkolik ve diyabetik hastalarda ciddi pnömoni vakalarını içeren toplum kökenli enfeksiyonların önemli bir etkeni olarak kabul edilmiştir. Son yıllarda bu patojene bağlı toplum kökenli pnömonilerin nadir görülmesine rağmen toplum kökenli endoftalmi ile komplike karaciğer apsisi, farklı metastatik enfeksiyonlar gibi yeni klinik görünümle karşımıza çıkmaktadır. Bu tür enfeksiyonlara üriner sistem enfeksiyonlarında görüldüğü gibi oldukça virülan olan K1 serotiplerinin neden olduğu belirlenmiştir (142).

Klebsiella nozokomiyal Gram-negatif bakteriyemide ve aynı zamanda kateterize hastaları etkileyen idrar yolu enfeksiyonlarında (İYE) (sırasıyla % 16 ve % 70) *Escherichia coli*'den sonra ikinci sırada yer almaktadır (119). *K. pneumoniae* kalıcı idrar sondası olan bireylerde önemli bir enfeksiyon nedeni olarak bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda idrar yolu enfeksiyonu olan ve risk altındaki belirli hasta gruplarında (örneğin; diabetes mellitus veya nöropatik mesanesi olan hastalarda) yüksek *K. pneumoniae* insidansı (% 6'dan% 17'ye kadar) olduğu bildirilmiştir (143).

İsrail'de intravasküler kateterlerle ilişkili bakteriyemiler üzerine yapılan epidemiyolojik bir çalışmada en yaygın tür olarak *Staphylococcus aureus*'un olduğu (%30) ve bunu *K. pneumoniae*'nin (%10) izlediği görülmüştür (144).

Genel olarak bir çalışmada hem idrar hem intravasküler kateterler gibi farklı medikal cihazlar ile ilişkili enfeksiyonların majör nedeni olarak *K. pneumoniae* saptanmış ve bunu *Staphylococcal* biyofilmler takip etmiştir. Ayrıca enfeksiyona

sebeup olan ve biyofilm üreten bakteriyel izolatların büyük çoğunluğunun çok ilaca dirençli oldukları saptanmıştır (122).

K. pneumoniae klinik enfeksiyonlarının sıklığının uzun süreli hastane yoğun bakım ünitelerinde yatanlarda kısa dönem yatanlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (145).

Hastane kaynaklı enfeksiyonlar üzerine yapılan prospektif bir çalışmada *K. pneumoniae* (%11) *Pseudomonas*'dan sonra (%25) ikinci en sık Gram negatif tür olarak bildirilmiştir (146). Bir başka çalışmada ise karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*'lar arasında en büyük payı karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*'nin (KPC-KP) aldığı bildirilmiştir. Bu suşların yayılması çoğunlukla klonal kompleks 258 (KPC-2 veya KPC-3 üreten ST-258 ve KPC-3 üreten ST-512) ile gerçekleşmektedir (147).

Hastanede yatan yetişkin yanık hastalarında Gram-negatif yara enfeksiyonları üzerine yapılan bir çalışmada *K. pneumoniae*'nin *P. aeruginosa*'dan sonra en yaygın Gram-negatif patojenlerden biri olduğu bildirilmiştir (148).

2.2.10. Nozokomiyal Bir Patojen Olarak *Klebsiella*

Klebsiella hastane ortamlarında tüm nozokomiyal bakteriyel enfeksiyonların %3–8'ini temsil eden ve nozokomiyal Gram-negatif bakteriyemi nedeni olarak ikinci sırada (*Escherichia coli*'den sonra) yer alan önemli fırsatçı patojenler arasında kabul edilmektedir. Bunlar çoğunlukla idrar ve solunum yolları enfeksiyonlarının yanı sıra yara ve yumuşak doku enfeksiyonları ile ilişkilidir ve ölümcül sepsisemiye neden olabilirler. *Klebsiella* suşları özellikle neonatal birimlerde nozokomiyal salgınlara yol açan ve hastalar arasında yaygın olarak yayılma kabiliyetine sahip bakterilerdir. İlk olarak 1952 yılında hastanede yatan hastalar arasında *K. pneumoniae*'ye bağlı idrar yolu enfeksiyon salgınları bildirilmiştir. Sonrasında çok sayıda çalışmada özellikle multi-rezistan suşların nozokomiyal salgınlarıyla ilgili bildirimler yapılmıştır (149).

Klebsiella suşları tarafından taşınan ve ESBL'leri kodlayan plazmidler diğer bakteriyel suşlara ve türlere de yayılabilmektedir. Hastane içi *Klebsiella* suşlarının yayılımının çoğunlukla ESBL üreten suşlarla olduğu belirlenmiştir (150). *K. pneumoniae*'nin neden olduğu nozokomiyal enfeksiyonlar iki ana nedenden dolayı kronik olma eğilimindedir: İlk neden, in-vivo olarak oluşturulan *K. pneumoniae* biyofilmlerinin, patojeni konak immün yanıtları ve antibiyotiklerin saldırılarına karşı koruması, diğer neden ise *K. pneumoniae* nozokomiyal izolatlarının yaygın olarak genişlemiş spektrumlu β -laktamaz veya karbapenemaz üretimine bağlı çoklu ilaca dirençli fenotipler sergilemesi ve bunun sonucunda tedaviyi zorlaştırmasıdır.

Klebsiella'nın nozokomiyal yayılımını önlemek için bazı tedbirlerin alınması gerektiği unutulmamalıdır. Üriner kateterlerin, intravenöz trakeostomilerin ve yaraların yönetimi, ekipman bakımı ve el yıkama için temel epidemiyolojik standartlara uyum nozokomiyal *Klebsiella* enfeksiyonlarının yayılımını önlemede önemlidir. *Klebsiella* enfeksiyonlarını kontrol altına almak için bir başka husus da antibiyotiklerin yanlış ve aşırı kullanımının önlenmesi için hastanede antibiyotik kullanımının düzenlenmesidir. Ayrıca nozokomiyal enfeksiyon surveyansı, *Klebsiella* enfeksiyon oranlarının önlenmesinde ve kontrolünde kullanılan verilerin toplanması için gereklidir. Nozokomiyal *Klebsiella* enfeksiyonları gelişmiş ülkelerde ekonomide ve hastaların yaşam beklentileri üzerinde ağır bir yük olmaya devam etmektedir. Bu nedenle hastane kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi için enfeksiyon kontrolüne yönelik yeni yaklaşımlar gerekmektedir.

2.2.11. *Klebsiella spp.* Epidemiyolojisi

Klebsiella türleri doğada bolca bulunan mikroorganizmalardır. *Klebsiella* türleri su yüzeyleri, kanalizasyon, toprak ve bitki gibi çevre ortamlarında, insan, at veya domuzlar gibi memelilerin mukozal yüzeylerinde olmak üzere çeşitli alanlarda bulunurlar. Bu bağlamda *Enterobacter* ve *Citrobacter*'e benzerlik gösterirler. Ancak

çevre ortamlarında bulunmayıp yaygın olarak insanlarda kolonize olan *Shigella* ve *E. coli* suşlarından farklılık göstermektedirler.

K. pneumoniae insanlarda nazofarenks ve bağırsak yolunda bir saprofit olarak bulunur. Taşıyıcılık oranları çalışmadan çalışmaya önemli ölçüde farklılıklar göstermektedir. Dışkı örneklerinde tespit oranı %5-38 arasında değişirken, nazofarenkste bulunma sıklığının %1-6 arasında değiştiği bilinmektedir (151). Gram-negatif bakteriler insan derisinde uygun üreme koşulları bulamadıklarından, *Klebsiella spp.* nadiren ciltte bulunmakta ve cilt florasının geçici üyeleri olarak kabul edilmektedir.

Mikroorganizmanın taşıyıcılık ve kolonizasyon oranlarının hastanede yatış süresi ile doğru orantılı olarak değiştiği bildirilmektedir. Hastane personelinin *Klebsiella* taşıyıcılık oranları yüksektir. Hastanede yatan hastalarda yapılan bir çalışmada taşıyıcılık oranları dışkıda %77, orofarenkste %19 ve hastaların ellerinde %42 oranlarında tespit edilmiştir (152). Hastaların geçmiş antibiyotik tedavilerinin yüksek nozokomiyal *Klebsiella* kolonizasyonu ile önemli ölçüde ilişkili olduğu görülmektedir. Bir çalışmada, hastaneye yatıştan 2 hafta sonra *Klebsiella* ile kolonizasyon oranlarında iki ila dört kat artış olduğu gözlenmiştir (153). Bu artış esas olarak geniş spektrumlu veya çoklu antibiyotik alan hastalarda ortaya çıkmıştır. Hastane ortamlarındaki yerel antibiyotik politikaları kolonizasyon paterninin önemli bir belirleyicisidir. *Klebsiella*'ya bağlı nozokomiyal enfeksiyon atak hızının hastanede yatan ve intestinal taşıyıcı olanlarda olmayanlara göre 4 kat fazla olması artmış kolonizasyonun önemini göstermektedir (154). Ayrıca antimikrobiyal tedavinin hastanelerdeki yaygın kullanımı çoklu ilaca dirençli *Klebsiella* suşlarının ortaya çıkmasından sorumlu tutulmaktadır. Bu istenmeyen durumlar profilaksi ve ampirik tedavide kullanılan antimikrobiyal ajanların sıkı kontrolü ile tersine çevrilebilecektir. Tıbbi cihazların (hatalı hijyenik prosedürler nedeniyle kontamine) ve kan ürünlerinin dışında, *Klebsiella* türlerinin hastane ortamında yayılmasına neden olan başlıca rezervuarlar, hastaların gastrointestinal sistemi ve hastane personelinin elleridir. Bu organizmanın hızla yayılması, özellikle neonatal ünitelerde olmak üzere hastane kaynaklı salgınlara yol açmaktadır.

2.2.12. *Klebsiella* Kökenlerinde Antibiyotik Direnci

K. pneumoniae amino-penisilinler ve karboksi-penisilinler gibi antibiyotiklere doğal olarak dirençlidir. Tedavi seçenekleri giderek azalmakta ve geriye üçüncü nesil sefalosporinler ve karbapenemler kalmaktadır. Bununla birlikte genişlemiş spektrumlu beta laktamazları ve karbapenemazları kodlayan genleri taşıyan izolatların ortaya çıkması bu son tedavi seçeneklerini de ortadan kaldırmakta ve antibiyotik tedavisinde alarm seviyesine ulaşılmasına neden olmaktadır. Bu nedenle WHO, ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi ve Birleşik Krallık Sağlık Bakanlığı dahil olmak üzere çok sayıda kurum *K. pneumoniae*'yi küresel bir sağlık sorunu olarak tanımlamıştır (155).

ESBL'ler genellikle plazmidler aracılığıyla yayılırlar. Bu plazmidler *Enterobacteriaceae*'nin farklı üyeleri arasında kolaylıkla aktarılabildiğinden direnç genlerinin birikmesi, çoğul dirençli plazmidler içeren suşların oluşumuyla sonuçlanır. Bu nedenle ESBL üreten izolatlar çeşitli antibiyotik sınıflarına dirençlidir. Bu çok dirençli *Klebsiella* suşlarının ortaya çıkması maalesef ESBL'leri kodlayan plazmidlerin nispeten yüksek stabilitesi ile birlikte olmaktadır. Seftazidim ve diğer genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin kesilmesinden yıllar sonra bile, ESBL üreten *Klebsiella* suşları ile hastaların kolonizasyonunun devam ettiği gözlenmiştir (156). Bu suşların elde edilmesinde hastanede kalış süresi ve uygulanan invaziv prosedürler gibi faktörler rol oynamaktadır. ESBL üretimi ve kinolon direnci arasında bir ilişkinin olduğu da bildirilmiştir. Kinolon direnci genellikle *gyrA* ve *parC* kromozomal genlerindeki mutasyonlarla belirlenmekte, ancak plazmidler üzerinde de kodlanabilmektedir (29).

K. pneumoniae sadece orta derecede kromozomal penisilinazlara sahip olmasına rağmen, 1980'lerin sonuna kadar aminoglikozidlere direnci yaygın olarak kodlayan ve daha sonra genişlemiş spektrumlu β -laktamazları kodlayan çok ilaca dirençli plazmidlerin iyi bilinen bir "toplayıcısı" dır. ESBL pozitif izolatlar çoğunlukla son kuşak sefalosporinlere karşı etki gösteren ve ayrıca β -laktamlar dışındaki ilaçlara direnç kazandıran Temoniera (TEM) ve Sülfhidril (SHV'ler) gibi çeşitli genler kodlamaktadırlar (5). Bu plazmidlerin edinilmesi ve florokinolonlara

direnç kazandıran kromozomal mutasyonların ortaya çıkması *K. pneumoniae* ilişkili enfeksiyonların tedavisinde “son savunma hattı” antibiyotikler olarak tanımlanan karbapenemlerin kullanılması zorunluluğunu doğurmuştur.

Ayrıca esas olarak Verona integron-kodlanmış metallo- β -laktamaz (VIM), imipenemaz-metallo- β -laktamaz (IMP) ve Yeni Delhi metallo- β -laktamaz (NDM) ile temsil edilen çinko-bağımlı Sınıf B metallo- β -laktamaz (M β LS) tipleri klonal proliferasyona dayanmak yerine bakteriler arasında hızla yayılan ve yüksek oranda iletilebilen plazmidler üzerinde kodlanır. Özellikle Asya kökenli NDM-1 geni Hindistan'da ortaya çıktıktan bir yıl sonra hemen hemen her kıtada bulunmuştur (5). Oksasilinaz-48 (OXA-48) tipinde plazmid ile ifade edilen D Sınıfı karbapenemazların ortaya çıkmasıyla tablo tamamlanmıştır (157).

Son yıllarda izole edilen her *Klebsiella* türünün bir ESBL üreticisi olup olmadığının belirlenmesinin gerekliliği tartışılmaktadır. Bu durum bir ülkenin veya hastanenin epidemiyolojik durumuyla ilişkilidir. Ancak yüksek oranda seftazidim direnci olan suşların ESBL pozitif olması beklenmektedir. Bugüne kadar bu tür izolatların saptanması için en çok iki tanısal test kullanılmıştır. Çift diskli sinerji testinde, bir klavulanik asit diski ve genişlemiş spektrumlu seftazidim gibi sefalosporin diski ekim yapılmış agar yüzeyinde birbirine yakın olarak yerleştirilir (158). Sefalosporin diski çevresindeki inhibisyon zonunun klavulanat içeren diske doğru yönelmesi ESBL üreten bir suşun varlığına işaret etmektedir. Diğer yöntem ise ticari olarak temin edilebilen ve ESBL taraması yapan E-test stripidir. Bu yöntem sadece seftazidimin antimikrobiyal aktivitesi arasındaki farkın değerlendirilmesine dayanmaktadır (159).

Ne yazık ki 2000'li yılların başından itibaren çok ilaca dirençli (MDR) *K. pneumoniae* suşları hem kısa süreli hem de uzun süreli hastane yatışlarında sık olarak izole edilmeye başlanmıştır. Daha sonraları *E. coli* de dahil olmak üzere diğer *Enterobacteriaceae* türlerinin karbapenemaz genleri taşıdığı bildirilmiştir. *K. pneumoniae*'nin bir β -laktamaz havuzu olarak hareket ettiği düşünülmektedir (160).

KPC enzimi üreten *K. pneumoniae* genellikle birkaç antibiyotiğe duyarlı olup, kan dolaşımı enfeksiyonları olan hastalarda yüksek ölüm oranı ile ilişkilidir. Aslında

bu suşların birçoğu kolistin, tigesiklin ve bir veya daha fazla aminoglikozide karşı duyarlıdır, ancak bazı suşların bu antibiyotiklere bile dirençli oldukları görülmüştür (161).

2.2.13. *E. coli* ve *Klebsiella* Cinsi Bakterilerde Önemli Bazı Direnç Genleri

KPC-2 Geni

Karbapenemler geleneksel olarak en ciddi bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için güçlü ve geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerdir. *Enterobacteriaceae* ailesi içinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) prevalansının artması, karbapenemlerin tüketiminin artmasına yol açmaktadır (157). Son on yılda karbapenemlerin yaygın kullanımı nedeniyle, karbapenem-dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinin (CRE) ortaya çıkması ciddi problemlere sebep olmaktadır (162). Literatürde en sık bildirilen CRE türü *Klebsiella pneumoniae*'dir, Bunu *Escherichia coli* ve/veya *Enterobacter* türleri takip etmektedir (163). Tahmin edilen mortalite oranı CRE enfeksiyonlu hastalarda %29 ila %52 ve kan dolaşımı enfeksiyonunda ise %40 ila %50 arasında değişmektedir (162).

Karbapenem direncinin iki ana mekanizması, Ambler sınıf A, B ve D beta-laktamazlar gibi karbapenemaz genlerinin edinimi ve karbapenemlere düşük etkinliğe neden olan beta-laktamazların aşırı ekspresyonu ile ilişkili olarak nitel ve/veya niceliksel olarak porin ekspresyonunun yetersizliği ve buna bağlı antibiyotik alımının azalmasıdır (164). Karbapenemaz eksprese eden *Enterobacteriaceae* türlerinin dünya çapında yayılması halk sağlığı açısından büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Bu nedenle erken teşhise ve enfeksiyon kontrolüne yönelik ciddi önlemler alınmalıdır (165).

KPC üreten *K. pneumoniae* suşlarının neden olduğu ilk hastane salgınları, 2000'lerin başında Kuzeydoğu ABD'de tanımlanmıştır. Kısa süre sonra çeşitli ülkelerden *KPC* üreten *K. pneumoniae* suşlarının ortaya çıktığı ve hızla yayılım gösterdiği bildirilmiştir. En göze çarpan ülkeler arasında İsrail, Çin ve Yunanistan yer almaktadır (166). *K. pneumoniae* izolatlarındaki *blaKPC-2* geni plazmidler tarafından aktarılmaktadır ve bir Tn3 türevi transpozon olan Tn4401 ile ilişkilidir (167). Global olarak *blaKPC* taşıyan *K. pneumoniae* izolatlarının gelişmesi esas olarak sekans tip 258'e ait suşlara atfedilmiştir (ST258). Ayrıca, *blaKPC-2*'nin plazmid ve transpozondaki konumu, diğer *K. pneumoniae* soylarına ve ayrıca diğer enterobakteriyel türlere ve non-fermentatiflere yayılmasını kolaylaştırmıştır. ABD, İsrail ve Batı Avrupa ülkelerinde *KPC* taşıyan *Escherichia coli* suşlarının sporadik izolasyonu bildirilmiştir (168,169).

Klebsiella pneumoniae karbapenemaz (*KPC*) enzimleri en sık *K. pneumoniae*'de tespit edilmiştir, ancak *E. coli*'de de giderek artan bir şekilde tespit edilmektedir. *KPC-2* üreten *E. coli* ilk olarak 2006'da bildirilmiştir (170). Sonraki yıllarda *E. coli*'deki *KPC* tipi enzimler Amerika Birleşik Devletleri, İsrail, Fransa ve Çin'den bildirilmeye devam etmiştir (168,171).

***Mcr-1* Geni**

Enterobacteriaceae dahil olmak üzere çok ilaca dirençli Gram negatif bakterilerden kaynaklanan enfeksiyonlar, özellikle de az sayıda antimikrobiyal maddeye duyarlı karbapenemaz üreten izolatlardan kaynaklanan enfeksiyonlar halk sağlığı açısından önem arz etmektedir. Polimiksinler, karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar için tarihsel olarak son çare antibiyotik tedavi seçeneği olarak kabul edilmiştir. Kolistin (polimiksin E) ve diğer polimiksinler, hücre zarından hücre içi bileşenlerin sızmasıyla sonuçlanan bakteriyel lipopolisakkarite (LPS) bağlanan katyonik peptitlerdir (172). Bununla birlikte, artan kolistin kullanımını küresel olarak Gram-negatif patojenlerde kolistin direncinin ortaya çıkmasına neden olmuştur ve direnç oranları sürekli artmaktadır

(17). Kolistin direncinin ortak mekanizmasının genellikle kromozom kodlu PmrA/PmrB ve PhoP/PhoQ iki bileşenli düzenleyici sistemler ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (173). Bu düzenleyici sistemlerdeki değişiklikler, pozitif yüklü 4-amino-4-deoksi-L-arabinoz (L-Ara4N) ve fosfoetanolamin moleküllerini etkileyerek LPS hedefinin modifikasyonuna neden olmakta, bu da dış bakteri zarının negatif yükünü azaltmakta ve böylece kolistin ile etkileşimin yoğunluğunu azaltmaktadır (174). Çin'de 2015 yılında *Enterobacteriaceae*'dan fosfoetanolamini lipit A'ya transfer ederek kolistine direnç sağlayan bir lipit A fosfoetanolamin transferazı kodlayan plazmid aracılı kolistin direnç geni (*mcr-1*) keşfedilmiştir (23). Kısa bir süre zarfında *mcr-1* genini taşıyan kolistin dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinin özellikle de *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'nin, dünya çapında gıda üreten hayvanlardan, insanlardan ve çevreden izole edildiği bildirilmiştir. Kolistin direncinin muhtemelen horizontal geçtiği düşünülmektedir (173).

***Qnr* Genleri**

Son otuz yılda, insan ve hayvanlardan izole edilen *Enterobacteriaceae* türlerinde kinolon direnci artmıştır (27). Florokinolon direnci temel olarak kinolonların hedefi olan DNA gyrase ve topoizomeraz IV enzimlerini kodlayan kromozomal genlerdeki mutasyonlar sonucunda olmaktadır (175). Üç plazmid aracılı kinolon direnç (PMQR) mekanizması tarif edilmiştir: (i) kinolon hedeflerini koruyan *qnr* proteinleri (27); (ii) sadece aminoglikozitleri değil aynı zamanda siprofloksasin ve norfloksasini asetilleyen *aac (6) - Ib-cr* enzimi (27); ve (iii) *QepA* ve *oqxAB* plazmid aracılı efflux pompaları (27). *Qnr* proteinleri pentapeptid tekrar protein ailesine aittir. Bu proteinler DNA giraz ve topoizomeraz IV'e bağlanır ve bunları kinolon inhibisyonundan korur. *Enterobacteriaceae* ailesinde, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC* ve *qnrD* genleri tarafından kodlanan beş tip *qnr* determinantı tanımlanmıştır (27, 176).

Klebsiella pneumoniae ve *Escherichia coli* toplum kökenli, hastane kökenli ve fırsatçı enfeksiyonlara neden olan en yaygın organizmalar arasındadır. Kinolon

direnci ile diğer antimikrobiyal maddelere, özellikle de beta-laktam ve aminoglikozitlere karşı direnç arasında çok yakın bir ilişkinin ortaya çıkması, bu enfeksiyonların yönetiminde ciddi bir sorundur.

Mag-A, Wca-G, Rmp A Genleri

K. pneumoniae'nin patojenitesi, bu bakterilerin bağışıklık sistemini aşmasına ve çeşitli hastalıklara neden olmasına yardımcı olan birçok virülans faktör üretiminin sonucudur. Lipopolisakkarit (O-antijen), kapsüler polisakkaritler (K antijen), fimbriya ve sideroforlar gibi farklı virülans faktörleri *Klebsiella*'nın patojenitesine katkıda bulunur (177). Bu faktörler arasında kapsül, biyofilm oluşumuna yardımcı olan ve fagositoza, antimikrobiyal peptitlere ve serum bakterisidal aktivitesine karşı korunmaya yardımcı olan en önemli virülans belirleyicilerinden biridir. *K. pneumoniae* suşlarında iyi bilinen K1 ve K2 serotiplerinin yanı sıra 77'den fazla kapsül antijeni vardır (178).

Klebsiella pneumoniae ayrıca kapsülleri (*magA*, K2A, *wcaG*) ve bir kapsüler regülatör genini (mukoid fenotipin regülatörü (*rmpA*)) kodlayabilen virülansla ilişkili genleri de taşımaktadır. Gen kümeleri içinde bulunan mukoviskozite ile ilişkili gen A (*magA*) ve *wcaG* genleri sırasıyla kapsüler polimeraz ve kapsüler biyosentezi kodlamaktan sorumludur (179). *Klebsiella pneumoniae* septisemi, pnömoni, diyare, endoftalmitis, menenjit, idrar yolu enfeksiyonları ve bakteriyemi gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojendir. Son yıllarda, özellikle Asya'da, metastatik karaciğer absesine neden olan invaziv bir *K. pneumoniae* türü izole edilmiştir (33). Bu invaziv tipte K1 ve K2 kapsüler tip ve *magA*, *rmpA* genleri ve aerobactin varlığı dahil olmak üzere birçok patojenik faktör tanımlanmıştır (34). Boyutu 1.2 kb olan *magA* geni, invaziv *K. pneumoniae*'da kapsül sentezinde bir polimeraz olarak işlev gören ve wzy olarak bilinen bir enzim proteinini kodlayan önemli bir virülans genidir (35). Bu nedenle, *K. pneumoniae* suşlarında *magA*'nın varlığı serum ve fagositoza direnci arttırmaktadır. Fagositoza direnç, serum kompleman faktörlerinin bakteriyel hücre zarına kolayca ulaşamamasıyla

oluşmaktadır. Sonuç olarak *magA* geni inhibisyonu serum ve fagositoza karşı tam direnç kaybına neden olmaktadır. *MagA* geninin varlığı *K. pneumoniae* K1 suşlarının neden olduğu metastatik enfeksiyonlarda önemli bir virülans belirleyicisi olarak işlev görmektedir (36).

RmpA gibi diğer virülans faktörlerinin varlığı, *K. pneumoniae*'nin patogeneğinde önemlidir. *RmpA* bakterilerde kapsüler antijen ekspresyonunun bir regülatörü olup, *K. pneumoniae*'nin mukoviskozite fenotipini kontrol etmektedir (37). Bu genin varlığı kapsüler polisakkaritte daha fazla kalınlığa neden olmakta ve *K. pneumoniae*'nin neden olduğu invaziv klinik enfeksiyonlarda rol oynamaktadır (180). Ancak *magA* ile karşılaştırıldığında *rmpA*'nın patogenezdeki önemi daha azdır. *WcaG* virülans geni, *K. pneumoniae* kapsül biyosentezinden sorumlu olan kromozomun transfer edilebilir bölgelerinde bulunmakta ve bakterilerin makrofajlar tarafından fagositozundan korunma kabiliyetini artırabilen mannozün fukoza dönüştürülmesini sağlamaktadır (40).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Mart 2018 ile Nisan 2019 tarihleri arasında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen idrar ve solunum yolu numunelerinden izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella* suşları kullanılarak Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.1. Araç ve Gereçler

- Etüv (Heal Force HF90, Çin)
- Santrifüj (NF 048; Nüve, Türkiye)
- PCR Cihazı (Thermal cycler, Techne Flexigene™, İngiltere)
- Elektroforez ünitesi (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD)
- UV Transilluminator (Wealtec, Dolphin-View, ABD)
- Otomatik pipetler (Discovery Autoclavable, Polonya)
- VITEK-2 Compact (bioMérieux S. A., Fransa)
- AST-325 antimikrobiyal duyarlılık kiti (bioMérieux S. A., Fransa)
- GN identifikasyon kiti (bioMérieux S. A., Fransa)
- Agaroz (Sigma-Aldrich, Almanya)
- DNA Ladder (100 bp, H3 RTU, GeneDirex)
- Etidium Bromid (Sigma-Aldrich, Almanya)
- Master mix (Ampliqon, Denmark)
- DNA Loading Dye (Hibrigen, Türkiye)
- Isı bloğu (Biosan SIA, Latvia)
- 96 kuyucuklu kapaklı, steril mikrolate (SPL, Korea)
- Kanlı agar (biomrieux, Fransa)

- Mg (Fermentas, Avrupa)
- dNTP (Fermentas, Avrupa)
- dH₂O (Fermentas, Avrupa)
- Taq polimeraz enzimi (Thermo Scientific Fermentas, Avrupa)
- Eosin Metilen-Blue Agar (EMB) (bioMèrieux, Fransa)
- Etil Alkol (Merck, Almanya)
- TBE Elektroforez Tamponu 10X
- Bakterial DNA İzolasyon Kiti (Hibrigen, Türkiye)
- Kolistin sülfat tozu (Sigma, Çin)
- Katyon ayarlı müeller hinton broth (BD, Fransa)

3.2. Örneklerin Toplanması ve Kültivasyon

Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nin çeşitli poliklinik ve servislerinde tedavi gören hastalardan gönderilen idrar ve solunum yolu örnekleri mikrobiyoloji laboratuvarında incelemeye alınmıştır.

Biz bu çalışmada idrar ve solunum yolu örneklerinden izole edilen *Klebsiella* ve *E. coli* suşlarında PCR yöntemiyle *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *KPC-2*, *mcr-1*, *magA*, *wcaG*, *rmpA* direnç ve virülans genlerinin varlığını ve fenotipik olarak otomatize Vitec-2 sistemiyle antibiyotik direnç dağılımını araştırdık. Çalışmaya 74 *E. coli*, 68 *K. pneumoniae* ve 22 *K. oxytoca* olmak üzere toplam 164 örnek dahil edilmiştir.

Marazi materyalden alınan klinik örnekler transport besiyerine alınarak standart transport besiyeri içinde kültür laboratuvarına ulaştırılmıştır. Laboratuvara gelen örnekler Eozin Methylene Blue (EMB) agara ve koyun kanlı agara inoküle edilerek 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İzole edilen kökenler konvansiyonel teknikler kullanılarak rutin biokimyasal testlere (oksidaz, üre, sitrat metil red, indol testleri, TSI besiyerinde fermentasyon testi vb.) dayalı olarak tanımlanmıştır. Suşların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testlerinde otomatize Vitek-2 sisteminden yararlanılmıştır. Suşların antibiyotik duyarlılıkları ve ESBL üretimi EUCAST-2019 kriterlerine göre belirlenmiştir. İzole edilen *Klebsiella* ve *E. coli* bakterilerinin ampisilin,

amoksisilin/klavulonik asit, piperasilin/tazobaktam, sefuroksim aksetil, seftazidim, seftriakson, sefepim, ertapenem, meropenem, gentamisin, amikasin, siprofloksasin, tigesiklin, kolistin ve trimetoprim sulfametoksazol ajanlarına karşı direnç durumları belirlenmiştir. Kolistin antibiyotik duyarlılık paterni ise sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. *E. coli* ve *Klebsiella* türlerinin antimikrobiyal ajanlara karşı MİK değerleri EUCAST-2019 kriterleri doğrultusunda duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) şeklinde değerlendirilmiştir.

İdentifikasyonu fenotipik yöntemlerle belirlenen kökenlerin genomik DNA ekstraksiyonları yapıldı. Daha sonra çeşitli direnç ve virülans genlerinin amplifikasyonu ve tespiti için PCR yöntemi kullanıldı. Çalışılan bakterilerin virülans ve direnç genlerinin moleküler olarak saptanması Tablo1’de verilen primerler ve PCR koşulları altında gerçekleştirilmiştir (Resim 1).

Tablo 1. Kullanılan virülans ve direnç gen primerleri ile PCR döngü protokolleri.

GENLER	Primer Dizisi 5’----3’	Fragment boyutu (bp)	PCR protokolü
Qnr A	F:5’ ATTTCTCACGCCAGGATTTG 3’ R: 5’GATCGGCAAAGGTTAGGTCA 3’	516 bp	94°C 4 dk
			94°C 45 sn
			53°C 45 sn 35X
			72°C 1 dk
			72°C 7 dk
Qnr B	F:5’GATCGTGAAAGCCAGAAAGG 3’ R: 5’ ACGATGCCTGGTAGTTGTCC 3’	469 bp	94°C 4 dk
			94°C 45 sn
			53°C 45 sn 35X
			72°C 1 dk
			72°C 7 dk
Qnr S	F: 5’ ACGACATTCGTCAACTGCAA 3’ R: 5’TAAATTGGCACCCCTGTAGGC 3’	417 bp	94°C 4 dk
			94°C 45 sn
			53°C 45 sn 35X
			72°C 1 dk
			72°C 7 dk

Tablo 1 (Devam). Kullanılan virülans ve direnç gen primerleri ile PCR döngü protokolleri.

<i>RmpA</i>	F: 5' ACTGGGCTACCTCTGCTTCA 3' R: 5' CTTGCATGAGCCATCTTTCA 3'	516 bp	94°C 5 dk
			94°C 1 dk
			54°C 1 dk 35X
			72°C 1 dk
72°C 7 dk			
<i>WcaG</i>	F: 5'GGTTGGGTCAGCAATCGTA 3' R: 5'ACTATTCGCGCAACTTTTGC 3'	169 bp	94°C 5 dk
			94°C 1 dk
			54°C 1 dk 35X
			72°C 1 dk
72°C 7 dk			
<i>MagA</i>	F: 5' GGTGCTCTTTACATCATTGC 3' R: 5' GCAATGGCCATTGCGTTAG 3'	1280 bp	95°C 5 dk
			95°C 1 dk
			45°C 1 dk 30X
			72°C 75 sn
72°C 10 dk			
<i>Kpc-2</i>	F1: 5'ATCGCCGTCTAGTTCTGCTG3' R1: 5'CCCTCGAGCGCGAGTCTA 3'	850 bp	94°C 4 dk
			94°C 30 sn
			68°C 45 sn 30X
			72°C 45 sn
72°C 7 dk			
<i>Mcr-1</i>	F1: 5'GGGCCTGCGTATTTTAAGCG 3' R1: 5'CATAGGCATTGCTGTGCGTC 3'	183 bp	94°C 5 dk
			94°C 30
			56°C 1 dk 25X
			72°C 1 sdk
72°C 5 dk			



Resim 1. PCR Cihazı (Thermal cycler, Techne FlexigeneTM, İngiltere)

3.3. Kullanılan Besiyerleri ve Solüsyonlar

3.3.1. Kanlı Agar

Ticari olarak toz halinde temin edilen kanlı agardan (bioMeurieux, Fransa) 40 gr tartılarak distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Sterilizasyon işleminden sonra yaklaşık 45-50 °C'ye kadar soğutuldu. İçerisine %5.0 (v/v) oranında ve steril şartlarda alınmış koyun kanı ilave edilip karıştırıldıktan sonra petri kutularına dağıtıldı.

3.3.2. Eosin Metilen-Blue Agar

Ticari olarak toz halde temin edilen EMB (biomrieux, Fransa) agardan 36 gr

tartılarak distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Otoklavda 121°C de 15 dakika sterilize edildikten sonra 9 cm çapında steril petri plaklarına döküldü. Besiyeri katılaştıktan sonra izolasyon ve identifikasyon için kullanıldı.

3.3.3. Katyon Ayarlı Mueller Hinton Broth

Toz besiyeri (BD, Fransa) 22,0 g/L olacak şekilde distile su içinde eritilip uygun tüplere dağıtıldı ve otoklavda 121° C'da 15 dakika sterilize edildi.

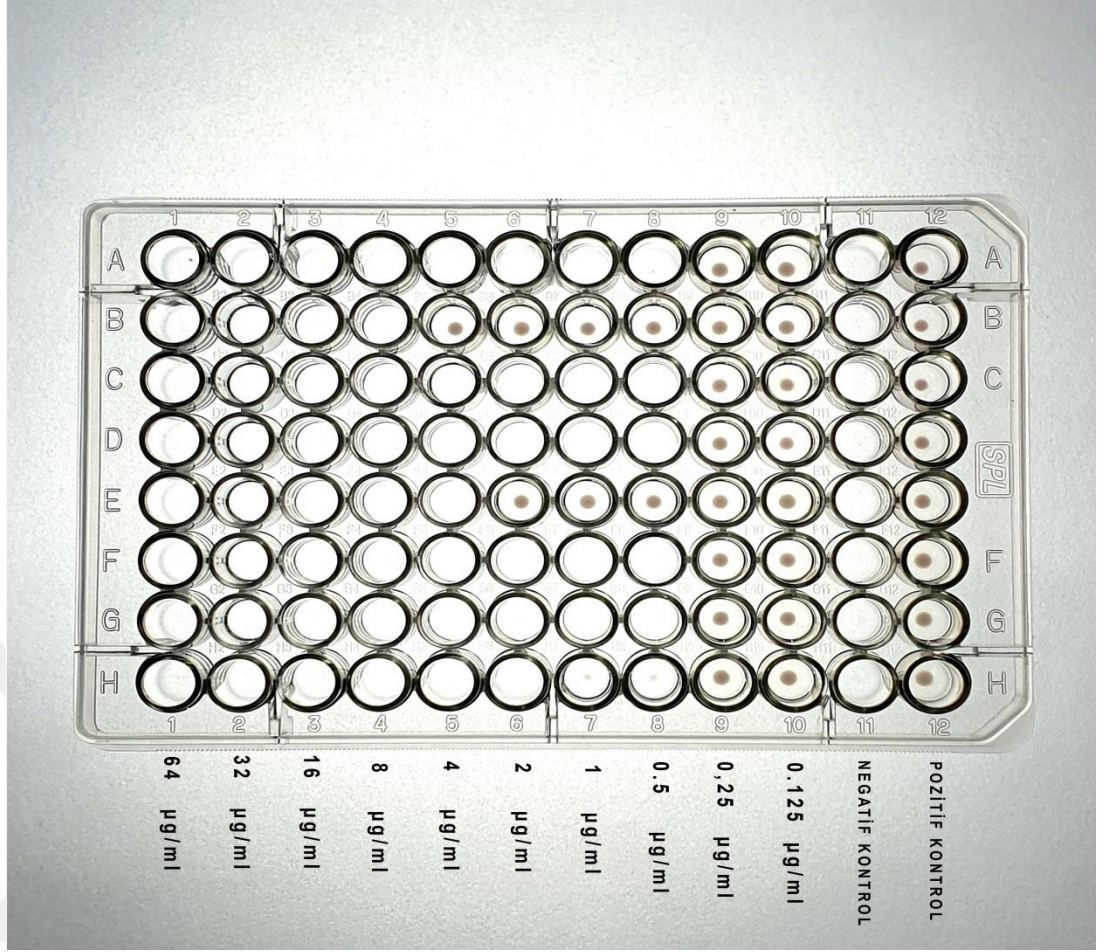
3.3.4. Gliserollü Brain-Heart İnfüzyon Broth

Toz besiyeri (Merck, Almanya) 37,0 g/L olacak şekilde distile su içinde eritilip, otoklavda 121 °C'de 15 dakika bekletilerek sterilize edildi. Sterilize edildikten sonra gliserol eklenip uygun tüplere dağıtıldı.

3.4. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Kolistin Antibiyotik Duyarlılığının Belirlenmesi

- 10 mg kolistin sülfat tozu 39 ml steril distile suda çözdürüldü. 256 µg/ml konsantrasyonlu çözelti elde edildi. Hazırlanan çözelti 1,5 ml steril eppendorf tüplere konularak -20 ° C'de muhafaza edildi. Çalışma günü ise oda sıcaklığında çözünmesi beklendi.
- Sonra 96 kuyucuklu steril mikropleyitin tüm kuyucuklarına 50 µl katyon ayarlı Müeller Hinton Broth eklendi (Resim 2).

- Daha sonra mikropleyitin her satırının ilk kuyucuklarına birinci adımda hazırlanan kolistin antibiyotik çözeltilisinden 50 µl eklendi (Resim 2).
- Böylece ilk kuyucuklardaki konsantrasyon 128 µg/ml oldu.
- İlk kuyucuktan itibaren 50 µl alınıp diğer kuyucuklara aktararak seri sulandırılmalar yapıldı (en son her satırın 10. kuyucuğundan alınan 50 µl karışım dışarı atıldı)
- Standart inokülüm doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Bir gün öncesinden koyun kanlı agara pasajlanmış taze kültürden bakteri kolonileri alınıp serum fizyolojik içerisinde bakteri konsantrasyonu McFarland 0.5'e göre ayarlanarak oluşturuldu. Bu bakteri çözeltilisinden 50 µl alınıp 4950 µl katyon ayarlı Mueller-Hinton Broth içeren tüpe aktarıldı.
- Daha sonra bu karışımdan 400 µl alınıp 3600 µl katyon ayarlı Mueller-Hinton Broth içeren tüpe aktarıldı.
- Son hacmi 4000 µl olan bakteri süspansiyonlu karışımdan mikropleyt üzerinde sadece 50 µl antibiyotik ve 50 µl katyon ayarlı Mueller-Hinton Brothun olduğu 11. kuyucuktaki negatif kontrol hariç tüm kuyucuklara 50 µl bakteri süspansiyonu dağıtıldı.
- Bakteri süspansiyonunun dağıtılmasıyla ilk kuyucuktaki antibiyotik konsantrasyonu 64 µg/ml 10. kuyucuktaki konsantrasyon ise 0.125 µg/ml oldu. On birinci kuyucuk negatif kontrol olarak bırakıldı (içerisinde 50 µl katyon ayarlı Mueller-Hinton Broth ve 50 µl kolistin süspansiyonu bulunmaktadır).
- On ikinci kuyucuk ise pozitif kontrol olarak seçildi ve içerisinde 50 µl katyon ayarlı Mueller-Hinton Broth ve 50 µl bakteri süspansiyonu bulunmaktadır (Pozitif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanılmıştır).
- Bakteri süspansiyonu kuyucuklara eklendikten sonra etüvde 35 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı.
- EUCAST-2019 kriterine göre >2 mg/l MİK değerine sahip olduğu görülen izolatlar dirençli olarak kabul edildi.



Resim 2. İzolatlarda kolistin antibiyotik duyarlılığının sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmesi.

3.5. Genomik DNA Ekstraksiyonu

- Çalışma öncesinde ilk olarak gliserollü Brain-Heart İnfüzyon Broth'da -20°C'de saklanan stoklar çözülerek canlandırma pasajı yapıldı.
- Moleküler analizler yapılmadan önce tüm kökenler EMB plaklarına pasajlandı.
- EMB plaklarında saf olarak üretilen *E. coli* ve *Klebsiella* kolonilerinden bir öze dolusu alınarak (10-20 mg) 1 ml serum fizyolojik içeren mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve 12.000 rpm de 1 dakika santrifüj işleminden sonra süpernatant (üst kısım) atıldı.
- Hazır olarak temin edilen 200 µl DS solüsyon mikrosantrifüj tüplerine eklenip 30 sn süre ile vortekslendi.

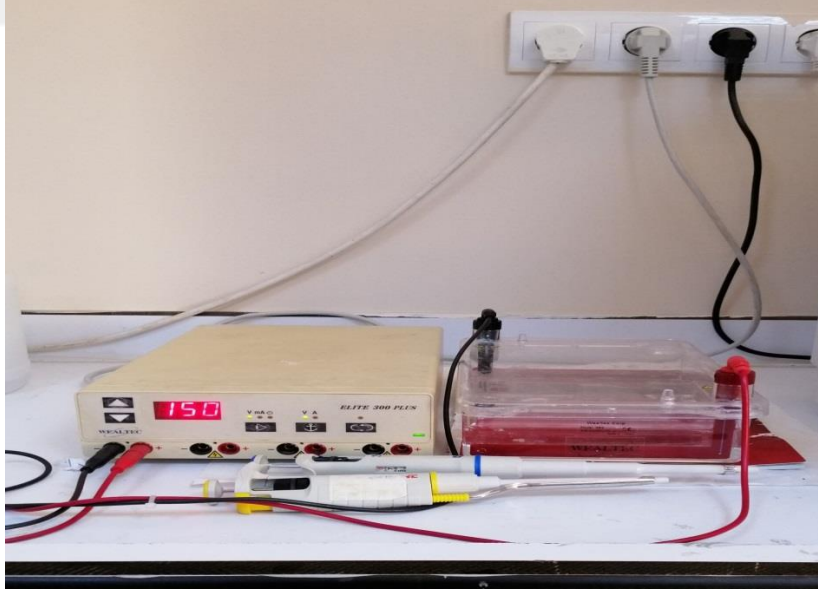
- Sonra tüplere 20 µl proteinaz K ve 220 µl MS solüsyon eklendi ve vortekslenerek 65 °C’de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Örneklerin üzerine 220 µl etanol (96-100) eklenerek vortekslendi.
- Daha sonra karışım spin kolumnun yerleştirildiği toplama tüpüne pipetlendi ve 12.000 rpm’de 1 dakika santrifüj işleminden sonra toplama tüpündeki sıvı atıldı.
- Sonra tüplere 500 µl yıkama solüsyonu (washing buffer) PS eklenerek 12.000 rpm’de 1 dakika santrifüj işlemi yapıldı. Sonra toplama tüpündeki sıvı atıldı.
- Daha önce etanolla dilüe edilen 500 µl yıkama solüsyonu (washing buffer) PE eklendi ve 12.000 rpm’de 1 dakika santrifüj işleminden sonra toplama tüpündeki sıvı atıldı. Bu işlem bir kez daha tekrarlandı.
- Kuru kolon membranı elde etmek için 12.000 rpm’de 3 dakika santrifüj yapıldı. Spin kolon steril 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilerek toplama kabı ve içindeki sıvı atıldı.
- Sonra 75 µl Elution Buffer TE (60 °C) direk membran üzerine pipetlenerek 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Sonra 12.000 rpm’de 2 dakika santrifüj işleminden sonra spin kolon atıldı ve mikrosantrifüj tüpünün dibindeki saf DNA PCR çalışması yapılncaya kadar -20 °C’lik dolaba kaldırıldı.

3.6. PCR Amplifikasyonu

İzole edilen genomik DNA örneklerinden, Tablo 1’deki primerler kullanılarak PCR amplifikasyonu yapıldı. Bu işlem öncesinde PCR reaksiyon karışımı hazırlandı. Buna göre, her hasta numunesi için bir eppendorf tüpüne 36,8 µl distile su, 5 µl PCR buffer, 1 µl dNTP, 0.2 µl Taq DNA polimeraz, 3 µl MgCl₂, 1 µl forward primer, 1 µl reverse primer konuldu. Karışım vortekslendikten sonra üzerine 2 µl genomik DNA ilave edildi. Toplamda 50 µl’lik bir hacim elde edildi ve her primer için yine tablo 1’deki amplifikasyon döngüleri uygulandı (Resim 1).

3.7. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforez Tekniği ile Görüntülenmesi

PCR işleminden sonra amplifikasyon ürünlerinin varlığı % 1.5 'luk agaroz jelde yürütülerek belirlenmiştir. Agaroz jelin hazırlanmasında TBE tamponu kullanılmıştır. 10X TBE stok solüsyonundan 1X TBE olacak şekilde distile su ile sulandırılarak kullanılmıştır. Bir buçuk gr agaroz tartılarak 100 ml'lik bir erlenmayere konuldu, 100 ml 1X TBE tamponu eklendi ve mikrodalga fırında 1-3 dk kaynatıldı. Daha sonra 10 mg/ml'lik etidyum bromid'ten 10 µl ilave edildi. Elektroforez tarakları jel dökme kabına tabanda 1 mm boşluk kalacak şekilde ayarlanarak yerleştirildi. Yaklaşık 50° C'ye kadar soğutulan agaroz jel, jel kabına dökülüp donması için oda sıcaklığında 30 dk bekletildi. Taraklar dikkatlice çıkartılarak jel kabı elektroforez tankına (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD) yerleştirildi. (Resim 3)



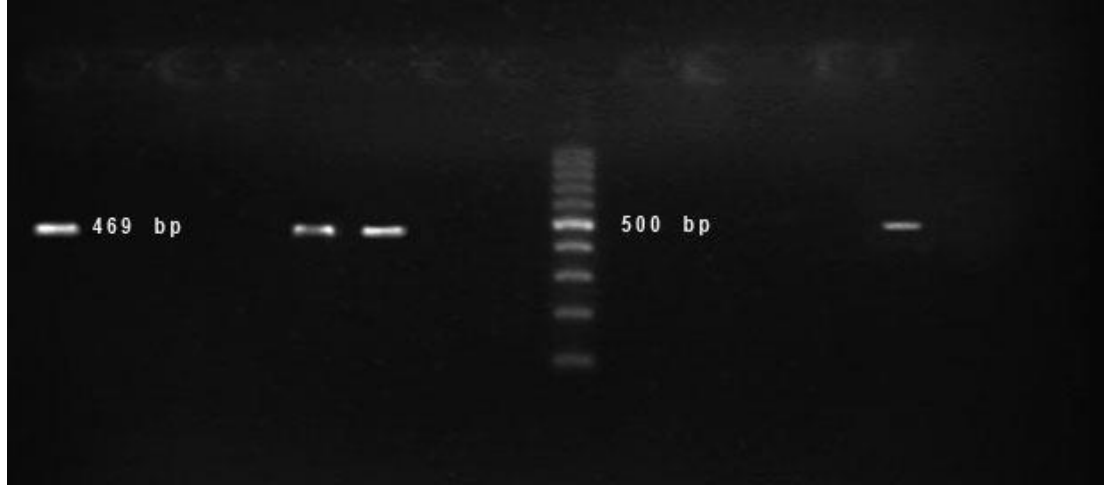
Resim 3. PCR ürünlerinin yürütüldüğü elektroforez ünitesi (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD).

Amplifiye edilen örneklerden 7'şer µl, loading (yükleme) tamponundan 3µl alınarak karıştırıldıktan sonra jelde açılan kuyucuklara yüklendi. Yükleme sırasında

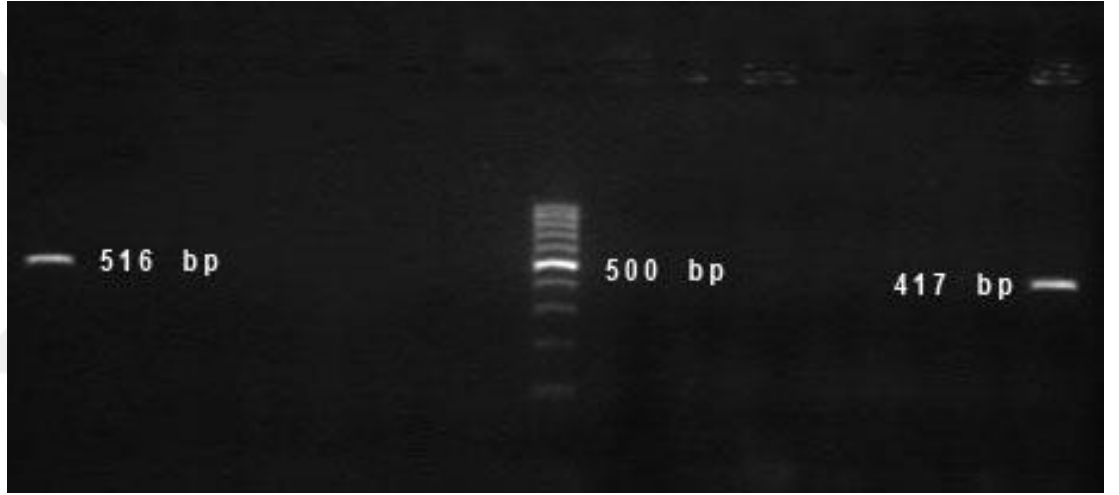
100 bp'lik DNA marker kullanılmıştır. Jele elektrik akımı (15 Volt/cm) verilerek 30 dk elektroforez yapıldı. Yaklaşık 30 dk sonra yurütme işlemi durdurularak jel görüntüleme cihazı (Wealtec, Dolphin-View, ABD) ile bantların varlığı incelendi (Resim 4, 5, 6, 7, 8).



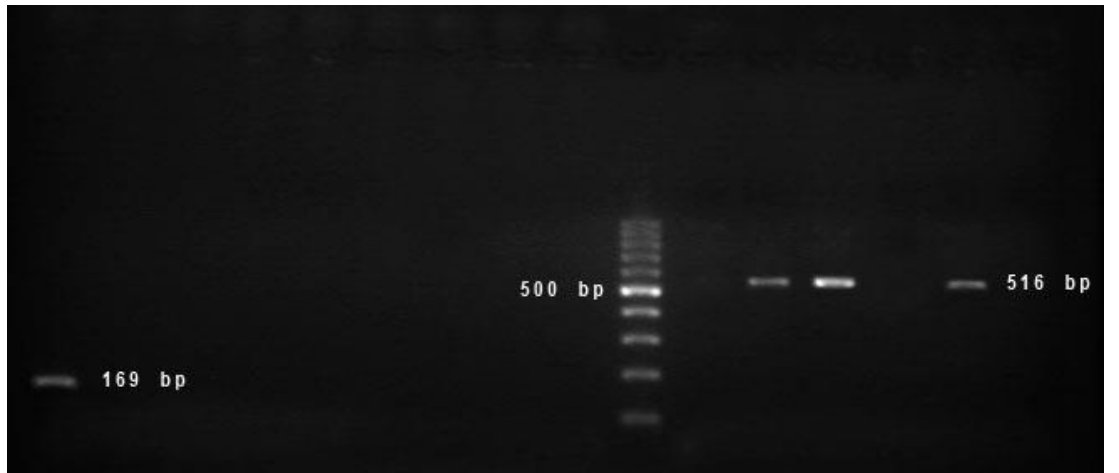
Resim 4. Jel elektroforez sonrası PCR ürünleri görüntüleme cihazı (Wealtec Dolphin-View, ABD, UV Transilluminator)



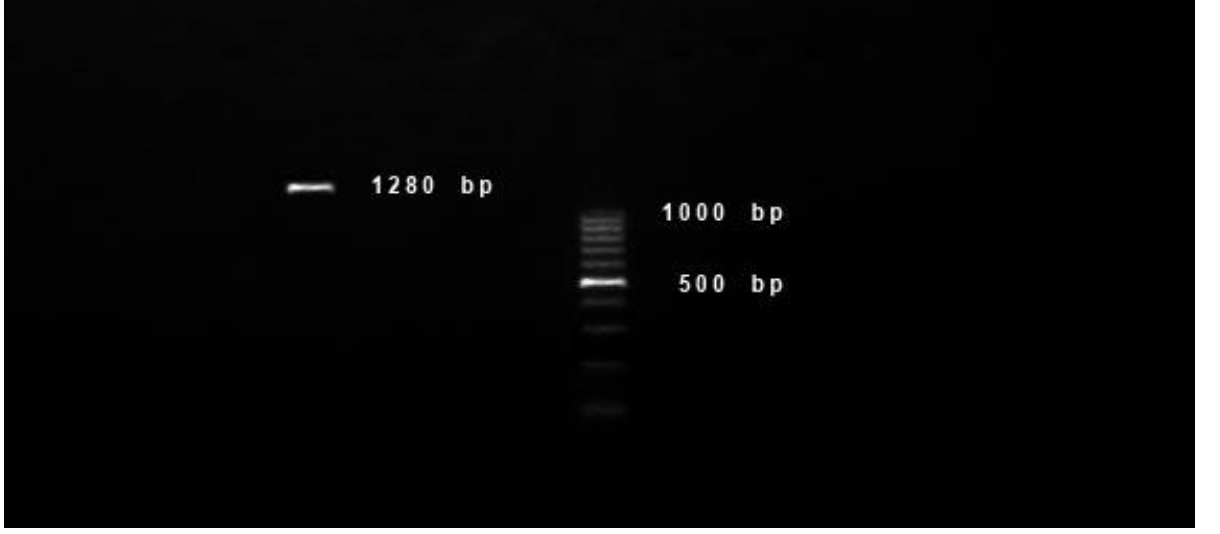
Resim 5. *QnrB* (469 bp) direnç geni PCR görüntüsü.



Resim 6. *QnrA* (516 bp) ve *QnrS* (417bp) direnç genleri PCR görüntüsü.



Resim 7. *RmpA* (516 bp) ve *wcaG* (169 bp) virülans genleri PCR görüntüleri.



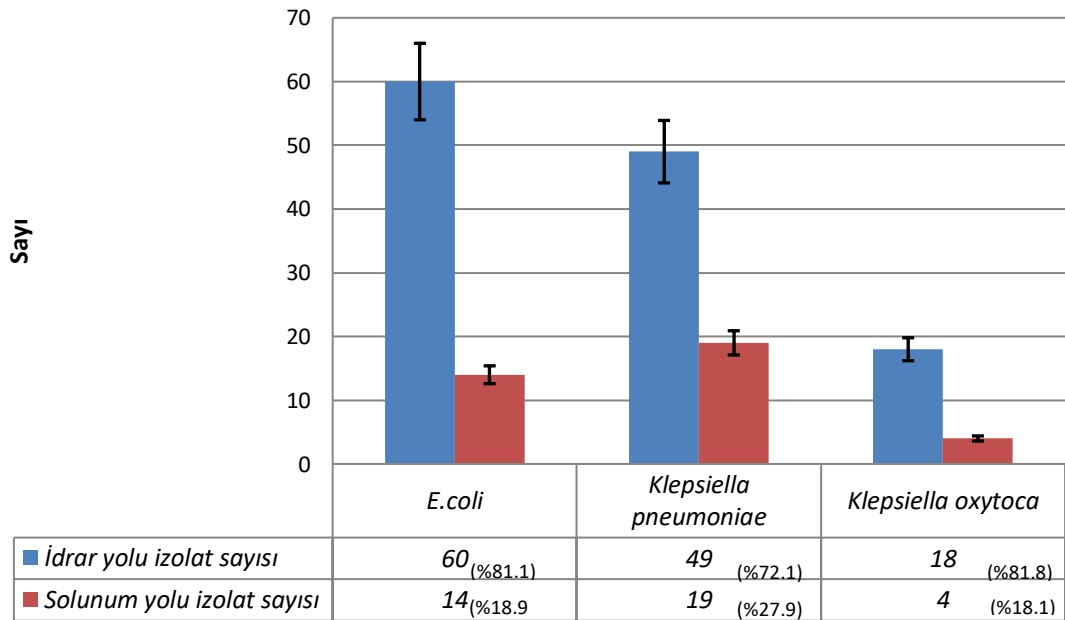
Resim 8. *MagA* (1280 bp) direnç geni PCR görüntüsü.

3.8. İstatiksel Analiz

Çalışmada tüm veriler ki-kare testi (χ^2 testi) ile analiz edildi. P değerinin ise < 0.05 olması anlamlı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS1 for Windows V. 17.0, Chicago, ABD) programı aracılığıyla yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen numunelerin %77.4'ü (127/164) idrar, %22.5'i (37/164) solunum yolu örneklerinden oluşmaktaydı. İzole edilen idrar örneklerinin %47.2'si (60/127) *E. coli*, %38.5'i (49/127) *K. pneumoniae*, %14.1'i (18/127) *K. oxytoca* suşlarından oluşmuştur. Solunum yolu örneklerinin %37.8'i *E. coli* (14/37), % 51.3'ü *K. pneumoniae* (19/37), % 10.8'i (4/37) *K. oxytoca* izolatlarından oluşmuştur. *E. coli* örneklerinin %81.1'i (60/74) idrar yolu örneklerinden %18.9'u (14/74) solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir. *K. pneumoniae* izolatlarının %72.1'i (49/68) idrar %27.9'u (19/68) solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir. *K. oxytoca* suşlarının %81.8'i (18/22) idrar, %18.1'i (4/22) solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Numune tipine göre izolatların dağılımı

Tablo 2. *E. coli* ve *Klebsiella* izolatlarının sayı, cinsiyet ve uyruk bazlı dağılımı.

İzolat Türü	Sayı (n) (%)	Erkek n (%)	Kadın n (%)	Türk Hastalar n (%)	Suriyeli Hastalar n (%)
<i>E. coli</i>	74 (45.1)	44 (59.4)	30 (40.5)	53 (71.6)	21 (28.3)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	68 (41.4)	39 (57.3)	29 (42.6)	53 (77.9)	15 (22.05)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	22 (13.4)	9 (40.9)	13 (50.1)	16 (72.7)	6 (27.2)
Toplam	164 (100)	92 (56.1)	72 (43.9)	122 (74.3)	42 (25.6)

Tablo 2’de görüldüğü üzere izolatların %74.3’ü (122/164) Türk hastalardan, %25.6’sı (42/164) Suriye uyruklu hastalardan izole edilmiştir. Çalışmaya alınan izolatların %56.1’i erkek (92/164), %43.9’u (72/164) kadın hastalardan izole edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen izolatların %41.4’ü (68/164) *Klebsiella pneumoniae*, %13.4’ü (22/164) *Klebsiella oxytoca*, %45.1’i (74/164) *E. coli* izolatlarından oluşmuştur (Tablo 2).

Tablo 3. *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarının izole edildiği birimlere göre dağılımı.

Suşların İzole Edildiği Birimler	Hasta Sayısı ve Yüzde Oranları
Üroloji	49 (29.8)
Dahiliye	42 (25.6)
Yoğun bakım üniteleri	28 (17.1)
Enfeksiyon Hastalıkları	17 (10.3)
Kadın Hastalıkları ve Doğum	10 (6.09)
Göğüs Hastalıkları	6 (3.6)
Pediyatri	5 (3.04)
Fizik Tedavi	2 (1.2)
Göğüs Cerrahisi	1 (0.6)
Nöroloji	1 (0.6)
Genel cerrahi	1 (0.6)
Kulak Burun Boğaz	1 (0.6)
Çocuk Cerrahisi	1 (0.6)
Toplam	164

Tablo 3’te *Klebsiella* ve *E. coli* suşlarının izole edildiği birimler görülmektedir. Tablodan da görülebileceği gibi bakteriler yüksek oranda Üroloji

(%29.8; 49/164) ve Dahiliye (%25.6; 42/164) bölümlerinden izole edilmiştir. Bu servislerden sonra en çok yoğun bakım (%17.1;28/164) ünitelerinden elde edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 4. *E. coli* izolatlarının antibiyotik direnç profili.

Antimikrobiyal Ajanlar	MİK Değerleri (µg/ml)										
	≥128	≥64	≥32	≥16	≥8	4	2	≤1	≤0.5	≤0.25	≤0.12
Ampisilin			64	1	4	2	3				
Amoksisilin/ Klavulonik Asit			52	8	6	4	4				
Piperasilin/Tazobaktam	15	8	3	1	11	39					
Sefuroksim Aksetil		43	4	6		22					
Seftazidim		14	17		10	2		1	6	6	18
Seftriakson		42		1	2				2	27	
Sefepim			16	17	5	4	1	2	2	1	26
Ertapenem					4		1	1		8	60
Meropenem				2		1		1		70	
Amikasin		1	3	2	5	7	56				
Gentamisin				30	2		1	41			
Siprofloksasin						44	2	3	10	15	
Tigesiklin						1	3	1	69		
Kolistin						2	4	12	43	13	
Trimetoprim Sulfametoksazol	49			25							

Tablo 4' te çalışmada izole edilen *E. coli* izolatlarının MİK değerleri görülmektedir (µg/ml).

Tablo 5. *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyotik direnç profili.

Antimikrobiyal Ajanlar	MİK Değerleri(µg/ml)										
	≥128	≥64	≥32	≥16	≥8	4	2	≤1	≤0.5	≤0.25	≤0.12
Ampisilin			59	8			1				
Amoksisilin/ Klavulonik Asit			36	9	7	3	13				
Piperasilin/Tazobaktam	19	6	4	5	13	21					
Sefuroksim Aksetil		45	1	1	2	4	9	6			
Seftazidim		21	18	2	2	1	1	1	2	3	17
Seftriakson		41	3		2					21	1
Sefepim			38		3		1	1	1	2	22
Ertapenem					10		1		1	8	48
Meropenem				8	1		2			57	
Amikasin		6	1	1	3	4	53				
Gentamisin				25			2	41			
Siprofloksasin						22	7	7	21	11	
Tigesiklin					6	2	6	23	31		
Kolistin		1		2	2		7	25	24	6	1
Trimetoprim Sulfametoksazol	34	1	2	31							

Tablo 5' te çalışmada izole edilen *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının MİK değerleri görülmektedir (µg/ml).

Tablo 6. *K. oxytoca* izolatlarının antibiyotik direnç profili.

Antimikrobiyal Ajanlar	MİK Değerleri(µg/ml)										
	≥128	≥64	≥32	≥16	≥8	4	2	≤1	≤0,5	≤0,25	≤0,12
Ampisilin			19	2			1				
Amoksisilin/ Klavulonik Asit			13	1	1		7				
Piperasilin/Tazobak tam	3	1		5	3	10					
Sefuroksim Aksetil		13		1		3	2	3			
Seftazidim		7	5			2			1	1	6
Seftriakson		11	1				1	1		8	
Sefepim			10				2		1		9
Ertapenem								1		3	18
Meropenem										22	
Amikasin						4	18				
Gentamisin				8				14			
Siprofloksasin						5	4	4	8	1	
Tigesiklin					1		3	4	14		
Kolistin							1	7	12	2	
Trimetoprim Sulfametoksazol	16		1	5							

Tablo 6’ da çalışmada izole edilen *Klebsiella oxytoca* izolatlarının MİK değerleri görülmektedir (µg/ml).

Tablo 7’de görüldüğü gibi *E. coli* kökenlerinin ampisilin (%87.8; 65/74), amoksisilin/klavulonik asit (%71.6; 53/74), trimetoprim/sulfametoksazol (%66.2; 49/74) ve siprofloksasin (%66.2; 49/74) dirençlerinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. *E. coli* kökenlerinde direncin olmadığı hiçbir antibiyotiğe rastlanmazken, en düşük direnç kolistin (%2.7; 2/74), meropenem (%2.7; 2/74), amikasin (%4; 3/74) ve ertapeneme (%6.7; 5/74) karşı görülmüştür. *K. pneumoniae* kökenlerinde ise izolatların tamamının ampisiline (n=74) dirençli olduğu görülmüştür. Ampisilinden sonra en yüksek direncin sefuroksim/aksetil (%72; 49/68), seftriakson (%67.6; 46/68) ve seftazidime (%63.2; 43/68) karşı olduğu görülmüştür. *K. pneumoniae* kökenlerinde de *E. coli*’ye benzer şekilde kolistin direncinin (%7.3; 5/68) en düşük düzeyde olduğu, bunu amikasin (%10.2;7/68), meropenem (%11.7; 8/68) ve ertapenemin (%16.1; 11/68) takip ettiği görülmektedir. *K. oxytoca* suşlarında ise ampisiline direnç *K. pneumoniae*’de olduğu gibi tüm suşlarda görülürken,

ampisilinden sonra en yüksek direncin sefuroksim aksetil (%72.7; 16/22) ve trimetoprim/sulfametoksazole (%72.7; 16/22) karşı olduğu görülmüştür. Diğerlerinden farklı olarak *K. oxytoca* suşlarında kolistin, amikasin ve meropeneme karşı direnç tespit edilmezken ertapeneme karşı 1 (%4.5) suşun dirençli olduğu saptanmıştır (Tablo 7).

Tablo 7. *E. coli* ve *Klebsiella* izolatlarının antimikrobiyal direnç profilleri.

AB Ajanlar	<i>E. coli</i> , n= 74 n (%)			<i>K.. pneumoniae</i> , n= 68 n (%)			<i>K. oxytoca</i> , n= 22 n (%)		
	S n (%)	I n (%)	R n (%)	S n (%)	I n (%)	R n (%)	S n (%)	I n (%)	R n (%)
AM	9(12.1)		65(87.8)			68(100)			22(100)
AMC	21(28.3)		53(71.6)	31 (45.5)		37(54.4)	9(40.9)		13(59)
TPZ	39(52.7)	13(17.5)	22(29.7)	34 (50)	5 (7.3)	29(42.6)	13(59)	5(22.7)	4(18,1)
CXA	21(28.3)		53(71.6)	17(25)	2(2.9)	49(72)	6(27.2)		16(72,7)
CAZ	28(37.8)	3(4)	43(58.1)	21(30.8)	4(5.88)	43(63.2)	7(31.8)	3(4.4)	12(54,5)
CRO	27(36.4)	1(1.3)	46(62.1)	21(30.8)	1(1.4)	46(67.6)	7(31.8)	3(4.4)	12(54,5)
FEP	27(36.4)	7(9.4)	40(54)	22(32.3)	5(7.3)	41(60.2)	8(36.3)	4(18.1)	10(45,4)
ETP	69(93.2)		5(6.7)	57(83.8)		11(16.1)	21(95.4)		1(4,5)
MEM	70(94.5)	2(2.7)	2(2.7)	57(83.8)	3(4.4)	8(11.7)	21(95.4)	1(4.5)	
AK	56(75.6)	15(20.2)	3(4)	53(77.9)	8(11.7)	7(10.2)	18(81.8)	4(18.1)	
CN	43(58.1)		31(41.8)	43(63.2)		25(36.7)	14(63.6)		8(36,3)
CIP	15(20.2)	10(13.5)	49(66.2)	11(16.1)	21(30.8)	36(52.9)	1(4.5)	8(36.3)	13 (59)
TGC	70(94.5)		4(5.4)	31(45.5)		37(54.4)	14(63.6)		8(36,3)
CT	72(97.2)		2(2.7)	63(92.6)		5(7.3)	22(100)		
SXT	25(33.7)		49(66.2)	33(48.5)		35(51.4)	6(27.2)		16(72,7)

Tablo 7’de bakteri türleri arasındaki antibiyotik direnç profilleri verilmiştir. Piperasilin tazobaktam direnci karşılaştırıldığında *K. pneumoniae* (%42.6) ve *E. coli* (%29.7) suşlarının benzer direnç oranlarına ($p>0.05$) sahip oldukları ve *K. pneumoniae* (%42.6) suşlarının *K. oxytoca* (%18.2) suşlarına göre anlamlı oranda daha dirençli oldukları saptanmıştır ($p<0.05$). Tigesiklin direnci karşılaştırıldığında ise *E. coli* suşlarının (%5.4), *K. pneumoniae* (%54.4) ve *K. oxytoca* (%36.3) suşlarına göre direnç oranlarının anlamlı derecede daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Ampisilin direnci ise *K. pneumoniae* (%100) ve *K. oxytoca* (%100) suşlarında *E. coli* suşlarına (%87.8) oranla daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Amoksisilin klavulonik asit direnci *E. coli* izolatlarında (%71.6) *K. pneumoniae*

izolatlarına (%54.4) oranla daha yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). Meropenem direnci ise *K. pneumoniae* izolatlarında (%11.7), *E. coli* (%2.7) ve *K. oxytoca* (%0) izolatlarına oranla daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Geri kalan antibiyotik direnç oranları ise bakteri türleri arasında benzer olarak tespit edilmiştir ($p>0.05$) (Tablo 7).

Tablo 8. Üriner sistem izolatlarının antimikrobiyal direnç profilleri.

AB Ajanlar	<i>E. coli</i> , n= 60			<i>K. pneumoniae</i> , n=49			<i>K. oxytoca</i> , n= 18		
	S n (%)	I n (%)	R n (%)	S n (%)	I n (%)	R n (%)	S n (%)	I n (%)	R n (%)
AM	8(13.3)		52(86.6)			49(100)			18(100)
AMC	20(33.3)		40(66.6)	23(46.9)		26(53)	7(38.8)		11(61.1)
TPZ	32(63.3)	11(18.3)	17(28.3)	25(51)	2(4)	22(44.8)	10(55.5)	4(22.2)	4(22.2)
CXA	19(31.6)		41(68.3)	12(24.4)	2(4)	35(71.4)	4(22.2)		14(77.7)
CAZ	24(40)	3(5)	33(55)	15(30.6)	4(8.1)	30(61.2)	4(22.2)	3(16.6)	11(61.1)
CRO	23(38.3)	1(1.6)	36(60)	15(30.6)		34(69.3)	4(22.2)	3(16.6)	11(61.1)
FEP	23(38.3)	7(11.6)	30(50)	16(32.6)	4(8.1)	29(59.1)	5(27.7)	4(22.2)	9(50)
ETP	57(95)		3(5)	42(85.7)		7(14.2)	17(94.4)		1(5.5)
MEM	57(95)	2(3.3)	1(1.6)	42(85.7)	3(6.1)	4(8.1)	17(94.4)	1(5.5)	
AK	47(78.3)	11(18.3)	2(3.3)	39(79.5)	8(16.3)	2(4)	14(77.7)	4(22.2)	
CN	36(60)		24(40)	34(69.3)		15(30.6)	12(66.6)		6(33.3)
CIP	12(20)	10(16.6)	38(63.3)	9(18.3)	16(32.6)	24(48.9)		7(38.8)	11(61.1)
TGC	56(93.3)		4(6.6)	23(46.9)		26(53)	10(55.5)		8(44.4)
CT	58(96.6)		2(3.3)	45(91.8)		4(8.1)	18(100)		
SXT	20(33.3)		40(66.6)	24(48.9)		25(51)	5(27.7)		13(72.2)

Tablo 8’de görüldüğü gibi üriner sistemden izole edilen *E. coli* kökenlerinde ampisilin (%86.6; 52/60), sefuroksim aksetil (%68.3; 41/60) trimetoprim/sulfametoksazol (%66.6; 40/60), amoksisilin/klavulonik asit (%66.6; 40/60) ve siprofloksasin (%63.3; 38/60) antibiyotik ajanlarına karşı yüksek oranlarda direnç tespit edilirken meropenem (%1.6; 1/60), kolistin (%3.3; 2/60) ve amikasin (%3.3; 2/60) dirençlerinin en düşük düzeyde olduğu görülmektedir. Üriner sistemden izole edilen *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* izolatlarında ampisilin direncinin %100 olduğu tespit edilirken her iki kökende de sefuroksim aksetil (sırasıyla %71.4, %77.7), amoksisilin/klavulonik asit (sırasıyla %53, %61.1), seftazidim (sırasıyla %61.2, %61.1) ve seftriaksona (%69.3, %61.1) karşı yüksek oranlarda direnç görülmüştür. *K. pneumoniae* suşlarında en düşük direnç amikasin

(%4; 2/49), kolistin (%8.1; 4/49) ve meropenem (%8.1; 4/49) karşı tespit edilirken; *K. oxytoca* suşlarında kolistin, meropenem ve amikasine karşı dirence rastlanmamıştır (Tablo 8). Ampisilin direnci *E. coli* izolatlarında (%86.6) *K. pneumoniae* (%100) ve *K. oxytoca* (%100) izolatlarına göre daha düşük saptanmıştır ($p<0.05$). Tigesiklin direnci ise *E. coli* izolatlarında (%6.6) *K. pneumoniae* (%53) ve *K. oxytoca* (%44.4) izolatlarına göre anlamlı oranda daha düşük saptanmıştır ($p<0.05$). İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* izolatlarının çalışılan tüm antibiyotiklere olan dirençleri benzer oranlarda saptanmıştır ($p>0.05$) (Tablo 8).

Tablo 9. Solunum yolundan izole edilen kökenlerde antimikrobiyal direnç profilleri.

AB Ajanlar	<i>E. coli</i> , n= 14			<i>K. pneumoniae</i> , n= 19			<i>K. oxytoca</i> , n= 4		
	S n (%)	I n (%)	R n (%)	S n (%)	I n (%)	R n (%)	S n (%)	I n (%)	R n (%)
AM	1(7.1)		13(92.8)			19 (100)			4(100)
AMC	1(7.1)		13(92.8)	8(42.1)		11(57.8)	2(50)		2(50)
TPZ	7(41.1)	2(14.2)	5(35.7)	9(47.3)	3(15.7)	7(36.8)	3(75)	1(25)	
CXA	2(14.2)		12(85.7)	5(26.3)		14(73.6)	2(50)		2(50)
CAZ	4(28.5)		10(71.4)	6(31.5)		13(68.4)	3(75)		1(25)
CRO	4(28.5)		10(71.4)	6(31.5)	1(5.2)	12(63.1)	3(75)		1(25)
FEP	4(28.5)		10(71.4)	6(31.5)	1(5.2)	12(63.1)	3(75)		1(25)
ETP	12(85.7)		2(14.2)	15(78.9)		4(21)	4(100)		
MEM	13(92.8)		1(7.1)	15(78.9)		4(21)	4(100)		
AK	9(64.2)	4(28.5)	1(7.1)	14(73.6)		5(26.3)	4(100)		
CN	7(41.1)		7(41.1)	9(47.3)		10(52.6)	2(50)		2(50)
CIP	3(15.7)		11(78.5)	2(10.5)	5(26.3)	12(63.1)	1(25)	1(25)	2(50)
TGC	14(100)			8(42.1)		11(57.8)	4(100)		
CT	14(100)			18(94.7)		1(5.2)	4(100)		
SXT	5(35.7)		9(64.2)	9(47.3)		10(52.6)	1(25)		3(75)

Solunum yolu örneklerinin antimikrobiyal direnç profilleri değerlendirildiğinde *E. coli* izolatlarının genel olarak antibiyotiklere karşı direnç oranlarının yüksek olduğu görülmüştür. Tablo 9'da görüldüğü gibi solunum yolundan izole edilen *E. coli* izolatlarının ampisilin (% 92.8; 13/14), amoksisilin/klavulonik asit (% 92.8; 13/14) ve sefuroksim aksetil (% 85.7; 12/14) ile

seftazidim (% 71.4; 10/14), seftriakson (% 71.4; 10/14) ve sefepim (% 71.4; 10/14) gibi sefalosporinlere karşı yüksek oranlarda direnç görülürken; tigesiklin ve kolistin direncine rastlanmamıştır. Amikasin (% 7.1; 1/14), meropenem (% 7.1; 1/14) ve ertapenem (%14.2: 2/14) ajanlarına karşı direncin düşük olduğu tespit edilmiştir. Solunum yolu örneklerinden izole edilen *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının tamamının ampisiline dirençli olduğu tespit edilirken, sefuroksim aksetil (%73.6; 14/19) yanında seftazidim (%68.4; 13/19), seftriakson (%63.1; 12/19), sefepim (%63.1; 12/19) ve amoksisilin/klavulonik asite (%57.8; 11/19) karşı *K. pneumoniae* suşlarının yüksek düzeyde dirençli oldukları tespit edilmiştir. *K. pneumoniae* kökenlerinde en düşük direncin kolistin (%5.2; 1/19), ertapenem (%21; 4/19), meropenem (%21; 4/19) ve amikasine (%26.3; 5/19) karşı olduğu tespit edilmiştir. Solunum yolundan izole edilen sınırlı sayıdaki *K. oxytoca* suşlarında ampisilinden (%100; 4/4) sonra en yüksek direnç trimetoprim sulfametoksazol (%75; 3/4), amoksisilin/klavulonik asit (%50; 2/4), sefuroksim aksetil (%50; 2/4), gentamisin (%50; 2/4) ve siprofloksasine (%50; 2/4) karşı tespit edilirken; tigesiklin, kolistin, amikasin, meropenem ve ertapeneme karşı dirençli suş tespit edilmemiştir. Solunum yolundan izole edilen *E. coli* ve *K. oxytoca* kökenlerinde tigesikline karşı direnç saptanmazken *K. pneumoniae* izolatlarında yüksek dirence (%57.8; 11/19) rastlanmıştır (Tablo 9). Tablo 9 incelendiğinde amoksisilin klavulonik asit direnci *E. coli* izolatlarında (%92.8) *K. pneumoniae* izolatlarına göre (%57.8) daha yüksek olarak saptanmıştır (p<0.05). Tigesiklin direnci ise *K. pneumoniae* izolatlarında (%57.8), *E. coli* (%0) ve *K. oxytoca* (%0) izolatlarına göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (p<0.05).

Üriner sistem ve solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyotik dirençleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05). Benzer şekilde üriner sistem ve solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilen *K. oxytoca* izolatlarının antibiyotik dirençleri arasında da anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05). Son olarak üriner sistem ve solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik dirençleri arasında da anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05) (Tablo 8-9).

Tablo 10. Türk-Suriye uyruklu hasta izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık dağılımı.

AB Ajanlar	Türk Hastalar n= 122									Suriye Uyruklu Hastalar n=42								
	<i>E. coli</i> , n= 53 , (%43.4)			<i>K. pneumoniae</i> n= 53 (%43.4)			<i>K. oxytoca</i> , n= 16, (%13,1)			<i>E. coli</i> , n= 21, (%50)			<i>K. pneumoniae</i> , n= 15, (%35.7)			<i>K. oxytoca</i> , n= 6, (%14.2)		
	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)
AM	7 (43.7)		46 (86.7)			53 (100)			16 (100)	2 (9.5)		19 (90.4)			15 (100)			6 (100)
AMC	16 (30.1)		37 (69.8)	26 (49)		27 (50.9)	7 (43.7)		9 (56.2)	5 (23.8)		16 (76.1)	5 (33.3)		10 (66.6)	2 (33.3)		4 (66.6)
TPZ	29 (54.7)	13 (24.5)	11 (20.7)	28 (52.8)	3 (5.6)	22 (41.5)	10 (62.5)	3 (18.7)	3 (18.7)	10 (47.6)		11 (52.3)	6 (40)	2 (13.3)	7 (46.6)	3 (50)	2 (33.3)	1 (16.6)
CXA	17 (32)		36 (67.9)	16 (30.1)	1 (1.8)	36 (67.9)	5 (31.2)		11 (68.7)	4 (19)		17 (80.9)	1 (6.6)	1 (6.6)	13 (86.6)	1 (16.6)		5 (83.3)
CAZ	23 (43.3)	3 (5.6)	27 (50.9)	18 (33.9)	3 (5.6)	32 (60.3)	5 (31.2)	2 (12.5)	9 (56.2)	6 (28.5)		15 (71.4)	3 (20)	1 (6.6)	11 (73.3)	2 (33.3)	1 (16.6)	3 (50)
CRO	22 (41.5)	1 (1.8)	30 (56.6)	18 (33.9)	1 (1.8)	34 (64.1)	5 (31.2)	2 (12.5)	9 (56.2)	5 (23.8)		16 (76.1)	3 (20)		12 (80)	2 (33.3)	1 (16.6)	3 (50)
FEP	23 (43.3)	5 (9.4)	25 (47.1)	19 (35.8)	4 (7.5)	30 (56.6)	5 (31.2)	4 (25)	7 (43.7)	4 (19)	2 (9.5)	15 (71.4)	3 (20)	1 (6.6)	11 (73.3)	3 (50)		3 (50)
ETP	51 (96.2)		2 (3.7)	45 (84.9)		8 (15)	16 (100)			18 (85.7)		3 (14.2)	12 (80)		3 (20)	5 (83.3)		1 (16.6)
MEM	52 (98.1)		1 (1.8)	45 (84.9)	2 (3.7)	6 (11.3)	16 (100)			18 (85.7)	2 (9.5)	1 (4.7)	12 (80)	1 (6.6)	2 (13.3)	5 (83.3)	1 (16.6)	
AK	39 (73.5)	12 (22.6)	2 (3.7)	44 (83)	4 (7.5)	5 (9.4)	12 (75)	4 (25)		17 (80.9)	3 (14.2)	1 (4.7)	9 (60)	4 (26.6)	2 (13.3)	6 (100)		
CN	31 (58.4)		22 (41.5)	34 (64.1)		19 (35.8)	9 (56.2)		7 (43.7)	12 (57.1)		9 (42.8)	9 (60)		6 (40)	5 (83.3)		1 (16.6)
CIP	15 (28.3)	6 (11.3)	32 (60.3)	11 (20.7)	18 (33.9)	24 (45.2)	1 (6.2)	6 (37.5)	9 (56.2)		4 (19)	17 (80.9)		3 (20)	12 (80)		2 (33.3)	4 (66.6)
TGC	51 (96.2)		2 (3.7)	25 (47.1)		28 (52.8)	10 (62.5)		6 (37.5)	19 (90.4)		2 (9.5)	6 (40)		9 (60)	4 (66.6)		2 (33.3)
CT	52 (98.1)		1 (1.8)	50 (94.3)		3 (5.6)	16 (100)			20 (95.2)		1 (4.7)	14 (93.3)		1 (6.6)	6 (100)		
SXT	20 (37.7)		33 (62.2)	27 (50.9)		26 (49)	5 (31.2)		11 (68.7)	5 (23.8)		16 (76.1)	6 (40)		9 (60)	1 (16.6)		5 (83.3)

Tablo 10' da Türk ve Suriye uyruklu hastalardan izole edilen *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının antibiyotik direnç profilleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Tablo incelendiğinde Suriye uyruklu hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* suşlarının siprofloksasin direnci (%80), Türk hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının siprofloksasin direncine (%45.2) göre anlamlı oranda yüksek bulunurken ($p < 0.05$), *K. pneumoniae* izolatlarının diğer antibiyotiklere olan direnç oranları Türk ve Suriye uyruklu hasta izolatlarında benzer oranlarda saptanmıştır ($p > 0.05$). Suriye uyruklu hastalardan izole edilen *E. coli* izolatlarında piperasilin tazobaktam ve seftazidim dirençleri Türk hastalardan izole edilen *E. coli* izolatlarına göre daha yüksek oranlarda saptanırken ($p < 0.05$), *E. coli* izolatlarının diğer antibiyotiklere olan direnç oranları Türk ve Suriye uyruklu hasta izolatlarında benzer oranlarda saptanmıştır ($p > 0.05$). *K. oxytoca* suşlarının tüm antibiyotik direnç oranları Türk ve Suriye uyruklu hastalardan elde edilen izolatlarda benzer oranlarda saptanmıştır ($p > 0.05$).

Tablo 11'de idrar numunelerinden izole edilen *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının antibiyotik direnç profillerinin uyruk orjininde kıyaslaması görülmektedir. İdrar örneklerinden izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella* kökenlerinde Türk veya Suriye uyruklu hasta izolatlarının antibiyotik profilleri incelendiğinde tablo 10 ile benzer antibiyotik direnç oranları görülmektedir.

Tablo 12'de yine uyruğa dayalı solunum yolu örneklerinin antibiyotik direnç profili kıyaslaması görülmektedir. Solunum örneklerinden izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella* kökenlerinde Türk veya Suriye uyruklu hasta izolatlarının antibiyotik profilleri incelendiğinde birçok antibiyotik direncinin tablo 10 ile benzer oranlarda olduğu görülmektedir.

Tablo 11. Türk-Suriye uyruklu hastaların idrar örneklerinden elde edilen izolatların antimikrobiyal duyarlılık dağılımı.

AB Ajanlar	Türk Hastalar, n=93									Suriye Uyruklu Hastalar , n=34								
	<i>E. coli</i> n=43 (%46.2)			<i>Klebsiella pneumoniae</i> n=36 (%38.7)			<i>K. oxytoca</i> n=14 (%15)			<i>E. coli</i> n=17 (%50)			<i>Klebsiella pneumoniae</i> n=13 (% 38.2)			<i>K. oxytoca</i> n=4 (%11.7)		
	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)
AM	6 (13.9)		37 (86)			36 (100)			14 (100)	2 (11.7)		15 (88.2)			13 (%100)			4 (100)
AMC	15 (34.8)		28 (65.1)	19 (52.7)		17 (47.2)	5 (35.7)		9 (64.2)	5 (29.4)		12 (70.5)	4 (30.7)		9 (69.2)	2 (50)		2 (50)
TPZ	24 (55.8)	11 (25.5)	8 (18.6)	20 (55.5)		16 (44.4)	8 (57.1)	3 (21.4)	3 (21.4)	8 (47)		9 (52.9)	5 (38.4)	2 (15.3)	6 (46.1)	2 (50)	1 (25)	1 (25)
CXA	15 (34.8)		28 (65.1)	11 (30.5)	1 (2.7)	24 (66.6)	3 (21.4)		11 (78.5)	4 (23.5)		13 (76.4)	1 (7.6)	1 (7.6)	11 (84.6)	1 (25)		3 (75)
CAZ	19 (44.1)	3 (6.9)	21 (48.8)	11 (30.5)	3 (8.3)	21 (58.3)	3 (21.4)	2 (14.2)	9 (%64.2)	5 (29.4)		12 (70.5)	3 (23)	1 (7.6)	9 (69.2)	1 (25)	1 (25)	2 (50)
CRO	18 (41.8)		25 (58.1)	12 (33.3)		24 (66.6)	3 (21.4)	2 (14.2)	9 (64.2)	5 (29.4)		12 (70.5)	3 (23)		10 (76.9)	1 (25)	1 (25)	2 (50)
FEP	19 (44.1)	5 (11.6)	19 (44.1)	13 (36.1)	3 (8.3)	20 (55.5)	3 (21.4)	4 (28.5)	7 (50)	4 (23.5)	2 (11.7)	11 (64.7)	3 (23)	1 (7.6)	9 (69.2)	2 (50)		2 (50)
ETP	43 (100)			31 (86.1)		5 (13.8)	14 (100)			14 (82.3)	1 (5.8)	2 (11.7)	11 (84.6)		2 (15.3)	3 (75)		1 (25)
MEM	43 (100)			31 (86.1)	2 (5.5)	3 (8.3)	14 (100)			14 (82.3)	2 (11.7)	1 (5.8)	11 (84.6)	1 (7.6)	1 (7.6)	3 (75)	1 (25)	
AK	33 (%76.7)	9 (20.9)	1 (%2.3)	31 (%86.1)	4 (%11.1)	1 (%2.7)	10 (%71.4)	4 (%28.5)		14 (%82.3)	2 (%11.7)	1 (%5.8)	8 (61.5)	4 (30.7)	1 (7.6)	4 (100)		
CN	26 (60.4)		17 (39.5)	26 (72.2)		10 (27.7)	8 (57.1)		6 (42.8)	10 (58.8)		7 (41.1)	8 (61.5)		5 (38.4)	4 (100)		
CİP	12 (27.9)	6 (13.9)	25 (58.1)	9 (25)	13 (36.1)	14 (38.8)		6 (42.8)	8 (57.1)		4 (23.5)	13 (76.4)		3 (23)	10 (76.9)		1 (25)	3 (75)
TGC	41 (95.3)		2 (4.6)	17 (47.2)		19 (52.7)	8 (57.1)		6 (42.8)	14 (82.3)		3 (17.6)	6 (46.1)		7 (53.8)	2 (50)		2 (50)
CT	42 (97.6)		1 (2.3)	33 (91.6)		3 (8.3)	14 (100)			16 (94.1)		1 (5.8)	12 (92.3)		1 (7.6)	4 (100)		
SXT	16 (37.2)		27 (62.7)	18 (50)		18 (50)	4 (28.5)		10 (71.4)	4 (23.5)		13 (76.4)	6 (46.1)		7 (53.8)	4 (100)		

Tablo 12. Türk-Suriye uyruklu hastaların solunum yolu örneklerinden elde edilen izolatların antimikrobiyal duyarlılık dağılımı.

AB Ajanlar	Türk Hastalar n=29									Suriye Uyruklu Hastalar n=8								
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> n=17 (%)			<i>E. coli</i> n=10 (%)			<i>K. oxytoca</i> n=2 (%)			<i>E. coli</i> n=4 (%)			<i>Klebsiella pneumoniae</i> n=2 (%)			<i>K. oxytoca</i> n=2 (%)		
	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	R n(%)
AM			17 (100)	1 (10)		9 (90)			2 (100)			4 (100)			2 (100)			2 (100)
AMC	7 (41.1)		10 (58.8)	1 (10)		9 (90)	2 (100)					4 (100)	1 (50)		1 (50)			2 (100)
TPZ	8 (47)	3 (17.6)	6 (35.2)	5 (50)	2 (20)	3 (30)	2 (100)			2 (50)		2 (50)	1 (50)		1 (50)	1 (50)	1 (50)	
CXA	5 (29.4)		12 (70.5)	2 (20)		8 (80)	2 (100)					4 (100)			2 (100)			2 (100)
CAZ	6 (35.2)		11 (64.7)	4 (40)		6 (60)	2 (100)					4 (100)			2 (100)	1 (50)		1 (50)
CRO	6 (35.2)	1 (5.8)	10 (58.8)	4 (40)		6 (60)	2 (100)					4 (100)			2 (100)	1 (50)		1 (50)
FEP	6 (35.2)	1 (5.8)	10 (58.8)	4 (40)		6 (60)	2 (100)					4 (100)			2 (100)	1 (50)		1 (50)
ETP	14 (82.3)		3 (17.6)	8 (80)		2 (20)	2 (100)			4 (100)			1 (50)		1 (50)	2 (100)		
MEM	14 (82.3)		3 (17.6)	9 (90)		1 (10)	2 (100)			4 (100)			1 (50)		1 (50)	2 (100)		
AK	13 (76.4)		4 (23.5)	6 (60)	3 (30)	1 (10)	2 (100)			3 (75)	1 (25)		1 (50)		1 (50)	2 (100)		
CN	8 (47)		9 (52.9)	5 (50)		5 (50)	1 (50)		1 (50)	2 (50)		2 (50)	1 (50)		1 (50)	1 (50)		1 (50)
CIP	2 (11.7)	5 (29.4)	10 (58.8)	3 (30)		7 (70)	1 (50)		1 (50)			4 (100)			2 (100)		1 (50)	1 (50)
TGC	9 (52.9)		8 (47)	10 (100)			2 (100)			4 (100)					2 (100)	2 (100)		
CT	17 (100)			10 (100)			2 (100)			4 (100)			1 (50)		1 (50)	2 (100)		
SXT	9 (52.9)		8 (47)	4 (40)		6 (60)	1 (50)		1 (50)	1 (25)		3 (75)			2 (100)			2 (100)

Tablo 13. İzolatlarda kinolon direnci ve *qnrA*, *B* ve *S* direnç gen dağılımı.

İzolat türleri	Siprofloksasin			<i>QnrA</i> pozitiflik sayısı n (%)	<i>QnrB</i> pozitiflik sayısı n (%)	<i>QnrS</i> pozitiflik sayısı n (%)
	S n (%)	I n (%)	R n (%)			
<i>E. coli</i> n=74	15(20.2)	10(13.5)	49(66.2)	4(5.4)	13(17.5)	7(9.4)
<i>K. pneumoniae</i> n=68	11(16.1)	21(30.8)	36(52.9)	0	16(23.5)	11(16.1)
<i>K. oxytoca</i> n=22	1(1.4)	8(36.3)	13(59)	2(9.1)	5(22.7)	5(22.7)
Toplam n=164	27(16.4)	39(23.7)	98(59.7)	6(3.6)	34(20.7)	23(14)

Tablo 13'te görüldüğü gibi *E. coli* ve *Klebsiella* kökenlerinde siprofloksasin ilaç direnciyle *qnrA*, *B*, *S* genlerinin pozitiflik oranları verilmiştir. *E. coli* kökenlerinin % 66.2'sinin (49/74) siprofloksasine dirençli olduğu tespit edilirken, gen varlığının %32.4 (24/74) olduğu tespit edilmiştir. *QnrB*'nin en yüksek oranda (%20.7; 34/164) olduğu, bunu %14 (23/164) oranla *qnrS* ve %3.6 (6/164) oranla *qnrA* direnç geninin takip ettiği görülmektedir. *K. pneumoniae* suşlarının ise siprofloksasin direncinin %52.9 (36/68) olduğu tespit edilirken; *qnrB* oranının %23.5 (16/68), *qnrS* oranının %16.1 (11/68) olduğu tespit edilmiştir. *K. pneumoniae* kökenlerinin hiçbirinde *qnrA*'ya rastlanmamıştır. *K. oxytoca* kökenlerinde ise *K. pneumoniae* kökenlerinde olduğu gibi *qnr* genlerinden *qnrB* (%22.7; 5/22) ve *qnrS* (%22.7; 5/22) yüksek oranda tespit edilirken, *qnrA* varlığı %9 (2/22) oranla en düşük düzeyde tespit edilmiştir. Siprofloksasin direnç oranlarının *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinin her üçünde birbirlerine yakın seyrettiği görülmüştür (sırasıyla %66.2, %59, %52.9) ($p>0.05$).

Tablo 14. *E. coli* ve *Klebsiella oxytoca* kökenlerinde *qnrA* gen pozitivitesi ile siprofloksasin ilaç direnci.

<i>QnrA</i> pozitif izolat türleri	İdrar örneği n (%)	Solunum yolu örneği n (%)	Türk kökenli sayısı n (%)	Suriye kökenli sayısı n (%)	Fenotipik olarak Siprofloksasin duyarlılık paterni		
					S n (%)	I n (%)	R n (%)
<i>E. coli</i> n=4	4(100)	0	3(75)	1(25)	1(25)	3(75)	
<i>K. oxytoca</i> n=2	2(100)	0	1(50)	1(50)	1(50)	1(50)	
<i>K. pneumoniae</i> n=0	0	0	0	0			
Toplam n=6	6(100)	0	4(66.6)	2(33.3)	1(16.6)	4(66.6)	

Tablo 14'te görüldüğü gibi *qnrA* gen pozitifliğinin sadece idrar yolu örneklerinde ve oldukça düşük oranda olduğu görülmektedir. *QnrA* gen pozitifliği saptanan 4 *E. coli* örneğinin 3'ünde (%75; 3/4) siprofloksasin direnci gözlenirken 2 *K. oxytoca* kökeninin ise 1'inde (%50; 1/2) siprofloksasin direncine rastlanmıştır. *QnrA* pozitifliği *E. coli* (%5.4; 4/74) ve *K. oxytoca* (%9.1; 2/22) izolatlarında benzer oranlarda saptanmıştır ($p>0.05$). *K. pneumoniae* izolatlarında ise *qnrA* pozitifliğine rastlanmamıştır (Tablo 14).

Tablo 15. İzolatlarda *qnrB* gen pozitivitesi ve siprofloksasin direnç profili.

<i>QnrB</i> pozitif izolat türleri	İdrar örneği n (%)	Solunum yolu örneği n (%)	Türk kökenli sayısı n (%)	Suriye kökenli sayısı n (%)	Fenotipik olarak siprofloksasin duyarlılık paterni		
					S n (%)	I n (%)	R n (%)
<i>K. pneumoniae</i> n=16	12(75)	4(25)	10(62.5)	6(37.5)	1(6.2)	2(12.5)	13(81.2)
<i>E. coli</i> n=13	10(76.9)	3(23)	8(61.5)	5(38.4)	3(23)	1(7.6)	9(69.2)
<i>K. oxytoca</i> n=5	4(80)	1(20)	5(10)	0			5(100)
Toplam n=34	26(76.4)	8(23.5)	23(67.6)	11(32.3)	4(11.7)	3(8.8)	27(79.4)

Çalışmada siprofloksasin direnç genlerinden *qnrB* gen pozitivitesine *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının 16'sında (%23.5; 16/68), *E. coli* izolatlarının 13'ünde (%17.5; 13/74), *K. oxytoca* izolatlarının 5'inde (%22.7; 5/22) olmak üzere toplam 34 (%20.7; 34/164) kökende rastlanmıştır. *QnrB* pozitif tespit edilen *K. pneumoniae* izolatlarının %75'i (12/16) idrar örneklerinden %25'i (4/16) solunum yolu örneklerinden tespit edilmiştir. *QnrB* pozitifliği tespit edilen *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinin %81.2'sinde (13/16) siprofloksasin ilaç direnci tespit edilmiştir. Benzer şekilde idrar numunelerinden izole edilen *E. coli* ve *K. oxytoca* kökenlerindeki *qnrB* direnç gen pozitivitesi solunum yolu örneklerinden izole edilen kökenlere kıyasla yüksek bulunmuştur. Toplam 127 idrar ve 37 solunum örneği dikkate alındığında ise *qnrB* oranı idrar ve solunum yolu örneklerinde sırasıyla %20.4 (26/127) ve %21.6 (8/37) gibi benzer oranlarda bulunmuştur ($p>0.05$). *QnrB*

pozitifliği saptanan *E. coli* izolatlarının %69,2'sinin (9/13), *K. oxytoca* kökenlerinin ise tamamında (5/5) siprofloksasin direnci tespit edilmiştir (Tablo 15).

Tablo 16. İzolatlarda *qnrS* gen pozitivitesi ve siprofloksasin direnç profili.

<i>QnrS</i> pozitif izolat türleri	İdrar örneği n (%)	Solunum yolu örneği n (%)	Türk kökenli sayısı n (%)	Suriye kökenli sayısı n (%)	Fenotipik olarak siprofloksasin duyarlılık paterni		
					S n (%)	I n (%)	R n (%)
<i>K. pneumoniae</i> n=11	9(81.8)	2(18.1)	9(81.8)	2(18.1)			11(100)
<i>E. coli</i> n=7	6(85.7)	1(14.2)	1(14.2)	6(85.7)		2(28.5)	5(71.4)
<i>K. oxytoca</i> n=5	4(80)	1(20)	2(40)	3(60)		2(40)	3(60)
Toplam n=23	19(82.6)	4(17.3)	12(52.1)	11(47.8)		4(17.3)	19(82.6)

Çalışmada *qnrS* frekansı, *qnrB* gen frekansına benzer şekilde en yüksek oranda *K. pneumoniae* kökenlerinde, takiben *E. coli* ve *K. oxytoca* kökenlerinde tespit edilmiştir. *K. pneumoniae* izolatlarının 11'inde (%16.1; 11/68) *qnrS* pozitifliği tespit edilirken bu izolatların 9'unun (% 81.8; 9/11) idrar yolu, 2'sinin de (%18.1; 2/11) solunum yolu örneklerinden izole edildiği görülmektedir. *QnrS* pozitifliği saptanan *K. pneumoniae* izolatlarının tümünde (11/11) siprofloksasin direncine rastlanmıştır. *K. pneumoniae* izolatlarında olduğu gibi *E. coli* ve *Klebsiella oxytoca* kökenlerinde de *qnrS* gen pozitivitesinin solunum yolu örneklerine kıyasla idrar yolu izolatlarında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Toplam 127 idrar ve 37 solunum örneği dikkate alındığında ise *qnrS* geni idrar ve solunum örneklerinde sırasıyla %14.9 (19/127) ve %10.8 (4/37) olarak benzer oranlarda bulunmuştur ($p>0.05$). *QnrS* gen pozitifliği saptanan 7 *E. coli* kökeninin 5'inde (%71.4; 5/7) siprofloksasin direncine rastlanırken, gen pozitifliği tespit edilen 5 *K. oxytoca* kökeninin 3'ünde (%60; 3/5) siprofloksasin direnci tespit edilmiştir (Tablo 16).

Sonuç olarak Tablo 15 ve 16 incelendiğinde *qnrB* ve *qnrS* kinolon direnç genlerinin idrar ve solunum yolu izolatları arasında benzer oranlarda saptandığı görülmektedir ($p>0.05$). Bunun yanı sıra *qnrB* ve *qnrS* direnç genleri *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları arasında da benzer oranlarda pozitif saptanmıştır ($p>0.05$).

Tablo 17. İdrar ve solunum örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların karbapenem direnç profili.

İzolat türleri	Ertapenem duyarlılık paterni n, (%)			Meropenem duyarlılık paterni n, (%)			KPC-2 pozitifliği sayısı
	S n (%)	I n (%)	R n (%)	S n (%)	I n (%)	R n (%)	
<i>E. coli</i> n=74	69(93.2)		5(6.7)	70(94.5)	2(2.7)	2(2.7)	0
<i>K. pneumoniae</i> n=68	57(83.8)		11(16.1)	57(83.8)	3(4.4)	8(11.7)	0
<i>K. oxytoca</i> n=22(%)	21(95.4)		1(4.5)	21(95.4)	1(4.5)		0
Toplam n=164(%)	147(89.6)		17(10.3)	148(90.2)	6(3.6)	10(6)	0

Tablo 17’de *E. coli* ve *Klebsiella* izolatlarının karbapenemlere karşı direnç profili verilmiştir. *E. coli* kökenlerinin ertapenem ve meropenem direncinin *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinden daha düşük olduğu tespit edilirken, *Klebsiella oxytoca* kökenleri arasında sadece 1 (%4.5; 1/22) izolatta karbapenem direnci bulunmuştur. Tablodan da görüldüğü gibi KPC-2 direnç gen pozitivitesi tespit edilememiştir (Tablo 17).

Tablo 18. Ertapenem dirençli izolatların numune tipi ve uyruk bazlı dağılımı.

İzolat türleri	İdrar örneği n (%)	Solunum yolu örneği n (%)	Türk kökenli sayısı n (%)	Suriye kökenli sayısı n (%)
<i>K. pneumoniae</i> n=11	7(63.6)	4(36.3)	8 (72.7)	3 (27.2)
<i>E. coli</i> n=5	3(60)	2(40)	2(40)	3(60)
<i>K. oxytoca</i> n=1	1(100)	-	-	1(100)
Toplam n=17	11(64.7)	6(35.2)	10(58.8)	7(41.1)

Tablodan da görüldüğü gibi tüm klinik izolatlar dikkate alındığında ertapenem direncinin % 10.3 (17/164) olduğu saptanmıştır. Ertapenem dirençli *Klebsiella* türleri ile *E. coli* suşlarının yüksek oranda idrar örneklerinden izole edildiği görülmektedir. Ertapenem dirençli *K. pneumoniae* kökenlerinin %63.6’sı (7/11) idrar, %36.3’ü (4/11) solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir. Türk ve Suriye uyruklu hastalarda ertapenem direncinin karşılaştırılması yapıldığında ise *Klebsiella*

pneomoniae izolatlarının büyük çoğunluğunun Türk uyruklu (%72.7; 8/11), *E. coli* ve *K. oxytoca* kökenlerinin büyük çoğunluğunun ise Suriye uyruklu hastalardan izole edildiği görülmüştür (Tablo 18).

Tablo 19. Meropenem dirençli izolatların numune ve uyruk bazlı dağılımı.

İzolat türleri	İdrar örneği n (%)	Solunum yolu örneği n (%)	Türk kökenli sayısı n (%)	Suriye kökenli sayısı n (%)
<i>K. pneumoniae</i> n=11(%)	7(%63.6)	4(%36.3)	8(%72.7)	3(%27.2)
<i>E. coli</i> n=4(%)	3(%75)	1(%25)	1(%25)	3(%75)
<i>K. oxytoca</i> n=1(%)	1(%100)	-	-	1(%100)
Toplam n=16(%)	11(%68.7)	5(%31.2)	9(%56.2)	7(%43.7)

Tablo 19’da görüldüğü gibi meropenem direncinin %9.7 (16/164) olduğu tespit edilmiştir. Meropenem dirençli izolatların büyük çoğunluğunun idrar örneklerinden izole edildiği tespit edilmiştir. Ertapenemde olduğu gibi meropenem dirençli bulunan *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinin çoğu Türk hastalardan izole edilirken, *E. coli* ve *K. oxytoca* kökenlerinin çoğu Suriye uyruklu hastalardan izole edilmiştir (Tablo 19).

Meropeneme duyarlı olmayan *K. pneumoniae* (n=11), *K. oxytoca* (n=1) ve *E. coli* izolatlarının (n=4) tümü (n=16) aynı zamanda ertapeneme de dirençli bulunmuştur. Buradan yola çıkarak izole edilen tüm suşlarda ertapenem ve meropenem direnç paternlerinin birbirine paralel olarak değişim gösterdiği söylenebilir.

Suriye uyruklu hastaların idrar örneklerinden elde edilen *E. coli* izolatlarından 1’inde *qnrA*, *qnrB* ve *rmpA* genlerinin pozitifliğine birlikte rastlanmıştır. İki Suriye uyruklu hastadan birinin idrar, diğerinin solunum yolu örneğinden izole edilen *E. coli* suşlarında *qnrB* ve *qnrS* direnç gen pozitifliklerine birlikte rastlanmıştır. İki Türk hastanın solunum yolu örneklerinden izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında ise *rmpA*, *magA*, *wcaG* virülans gen pozitifliklerine birlikte rastlanmıştır. Suriye kökenli bir hastanın idrar örneğinden izole edilen *K. oxytoca* suşunda ise *rmpA*, *wcaG* ve *qnrS* gen pozitifliklerine birlikte rastlanmıştır. Türk hastalardan 1’inin idrar

örneğinden izole edilen *K. oxytoca* suşunda *wcaG* virülans geni ile *qnrA* direnç geni pozitifliği birlikte tespit edilmiştir.

Tablo 20. İdrar ve solunum örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların kolistin direnç profili.

İzolat türleri	Kolistin direnci sayı(%)	<i>Mcr-1</i> pozitiflik sayısı
<i>E.coli</i> n=74	2 (2.7)	0
<i>K.pneumoniae</i> n=68	5 (7.3)	0
<i>K.oxytoca</i> n=22	0	0
Toplam n=164	7 (4.2)	0

Çalışmada üriner sistem ve solunum yollarından izole edilen tüm şuşlar arasında kolistin direnci tespit edilen izolatların *Klebsiella pneumoniae* ve *E. coli* türlerinde olduğu görülmektedir. Tablodan da anlaşılacağı gibi kolistin direnci ile ilişkili genlerden *mcr-1* pozitivitesine rastlanmamıştır (Tablo 20). Kolistin dirençli 5 *K. pneumoniae* izolatının 2'si Suriye uyruklu 3'ü Türk hastalardan izole edilirken, 4'ü ertapenem ve meropenem karşı duyarlı ve 1'i dirençli bulunmuştur. Kolistin dirençli 2 *E. coli* izolatının 1'i Suriye uyruklu 1'i Türk hastadan izole edilmiş olup her ikisinde de karbapenem direnci tespit edilmemiştir.

Tablo 21. İzole edilen mikroorganizmalarda *rmpA* virülans gen pozitivitesi.

<i>RmpA</i> pozitif izolat türleri	İdrar örneği n (%)	Solunum yolu örneği n (%)	Türk kökenli sayısı n (%)	Suriye kökenli sayısı n (%)
<i>E. coli</i> n=6	6(100)	0	5(83.3)	1(16.6)
<i>K. pneumoniae</i> n=4	0	4(100)	4(100)	0
<i>K. oxytoca</i> n=1	1(100)	0	0	1(100)
Toplam n=11	7(63.6)	4(36.3)	9(81.8)	2(18.1)

RmpA virülans geni tüm örnekler dikkate alındığında %6.7 (11/164) olarak düşük düzeyde tespit edilmiştir. *RmpA* pozitivitesi *E. coli* izolatlarında *Klebsiella* türlerine oranla daha yüksek oranda tespit edilirken, gen pozitifliği saptanan *E. coli* izolatlarının tamamının (n=6) idrar yolu enfeksiyonu olan hastalardan elde edilen kökenler olduğu görülmektedir. Başka bir deyişle idrar yolundan izole edilen *E. coli* izolatlarının %10'unda (6/60) *rmpA* geni tespit edilmiştir. *Klebsiella* türlerinde ise

rmpA gen pozitifliği tespit edilen 4 izolatın solunum yolu örneklerinden olduğu tespit edilmiştir. Başka bir deyişle solunum yolundan izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının %21 (4/19)'inde *rmpA* geni tespit edilmiştir. İdrar yolu örneklerinden izole edilen *K. oxytoca* kökenlerinden 1'inde *rmpA* (%5.5; 1/18) gen pozitifliği tespit edilmiştir. *RmpA* geni pozitif bulunan 11 izolatın 9'u Türk, 2'si Suriye uyruklu olarak tespit edilmiştir (Tablo 21). *RmpA* geni Türk hastaların %7.3'ünde (9/122), Suriye uyruklu hastaların %4.7'sinde (2/42) tespit edilmiştir.

Tablo 22. İzole edilen mikroorganizmalarda *wcaG* virülans gen pozitivitesi.

<i>WcaG</i> pozitif izolat türleri	İdrar örneği n (%)	Solunum yolu örneği n (%)	Türk kökenli sayısı n (%)	Suriye kökenli sayısı n (%)
<i>E. coli</i> n=3	1(33.3)	2(66.6)	2(66.6)	1(33.3)
<i>K. pneumoniae</i> n=2	0	2(100)	2(100)	0
<i>K. oxytoca</i> n=2	2(100)	0	1(50)	1(50)
Toplam n=7	3(42.8)	4(57.1)	5(71.4)	2(28.5)

İzole edilen tüm türler dikkate alındığında *wcaG* virülans gen pozitivitesi %4.2 (7/164) gibi düşük bir oranda tespit edilmiştir. *E. coli* izolatlarının 3'ü *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* izolatlarının 2'sinde *wcaG* gen pozitifliği tespit edilmiştir. *WcaG* pozitifliği tespit edilen *K. pneumoniae* izolatlarının solunum yolu örneklerinden, *E. coli* izolatlarının 2'sinin solunum yolu örneklerinden ve *K. oxytoca* izolatlarının her 2'sinin idrar yolu örneklerinden tespit edildiği görülmüştür (Tablo 22). Başka bir deyişle idrar örneklerinden tespit edilen *E. coli* izolatlarının %1.6'sında (1/60), solunum örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının %14.2'sinde (2/14) *wcaG* geni tespit edilmiştir. Solunum yolu örneklerinden izole edilen *K. pneumoniae* suşlarının %10.5'inde (2/19) *wcaG* genine rastlanırken, idrar örneklerinden izole edilen *K. oxytoca* suşlarının %11.1'inde (2/18) *wcaG* genine rastlanmıştır. *WcaG* virülans geni Türk hastaların %4.1'inde (5/122), Suriye uyruklu hastaların %4.7'sinde (2/42) tespit edilmiştir. Çalışmada izole edilen mikroorganizmalarda en düşük düzeyde tespit edilen virülans geni *magA* (%1.2; 2/164) olup sadece solunum yolu örneklerinden izole edilen 2 *K. pneumoniae* kökeninde tespit edilmiştir. *E.coli* ve *Klebsiella oxytoca* izolatlarında *magA* geni saptanmamıştır. Bu 2 *magA* pozitif izolatta aynı zamanda *rmpA* ve *wcaG* virülans

genleri de pozitif saptanmıştır. Virülans genlerine (*rmpA*, *wcaG*, *magA*) sahip izolatların antibiyotik direnç profili virülans genlerine sahip olmayanlarla benzer olarak saptanmıştır.

Tablo 23. ESBL pozitif saptanan izolatların numune tipi ve uyruğa dayalı dağılımı.

ESBL pozitif izolat türleri	İdrar örneği n (%)	Solunum yolu örneği n (%)	Türk kökenli sayısı n (%)	Suriye kökenli sayısı n (%)
<i>E. coli</i> n=38	31(81,5)	7(18,4)	28(73,6)	10(26,3)
<i>K. pneumoniae</i> n=35	26(74,2)	9(25,7)	26(74,2)	9(25,7)
<i>K. oxytoca</i> n=14	13(92,8)	1(7,1)	11(78,5)	3(21,4)
Toplam n=87	70(80,4)	17(19,5)	65(74,7)	22(25,2)

Tüm izolatlar dikkate alındığında %53 (87/164) oranında ESBL pozitifliği tespit edilmiştir. Tür bazında bakıldığında *E. coli* izolatlarının %51.3'ü (38/74), *K. pneumoniae* izolatlarının %51.4'ü (35/68), *K. oxytoca* suşlarının ise %63.6'sı (14/22) ESBL pozitif bulunmuştur. Numune tipine göre değerlendirildiğinde ise idrar örneklerinin %55.1'i (70/127), solunum örneklerinin %45.9'u (17/37) ESBL pozitif bulunmuştur. Uyruk kökenine göre bakıldığında Türk hastaların %53.2'si (65/122), Suriye uyruklu hastaların %52.3'ü (22/42) ESBL pozitif olarak tespit edilmiştir. *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E.coli* bakteri türleri arasında, idrar ve solunum yolu ya da Türk-Suriye uyruklu hasta izolatları arasında yapılan karşılaştırmalarda ESBL pozitiflik oranları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Çalışmada ESBL pozitif bulunan izolatlar değerlendirildiğinde ise *E. coli*, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* izolatlarının yüksek oranda (%80.4; 70/87) idrar yolu numunelerinden izole edildiği görülmektedir. ESBL pozitif olarak tespit edilen 38 *E. coli* izolatının 31'inin (%81.5), 35 *Klebsiella pneumoniae* izolatının 26'sının (%74.2) ve 14 *K. oxytoca* izolatının 13'ünün (%92.8) idrar yolu numunelerinden elde edildiği görülmüştür. ESBL pozitif olarak tespit edilen *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* izolatlarının sırasıyla %73,6, %74.2 ve %78.5'inin Türk kökenli hastalardan izole edilen suşlar olduğu saptanmıştır (Tablo 23).

Tablo 24. ESBL pozitif saptanan izolatların antibiyotik direnç paterni.

AB Ajanlar	<i>E. coli</i> n=38 (%)			<i>K. pneumoniae</i> n=35 (%)			<i>K. oxytoca</i> n=14(%)		
	S n (%)	I n (%)	R n (%)	S n (%)	I n (%)	R n (%)	S n (%)	I n (%)	R n (%)
AM	-	-	38 (%100)	-	-	35(%100)	-	-	14 (%100)
AMC	6 (%15.7)	-	32 (%84.2)	14(%40)	-	21(%60)	3 (%21.4)	-	11 (78.5)
TPZ	20 (%52.6)	5 (%13.1)	13 (%34.2)	17(%48.5)	4(%11.4)	14(%40)	7 (%50)	3 (%21.4)	4 (%28.5)
CXA	--	-	38 (%100)	-	-	35(%100)	-	-	14 (%100)
CAZ	-	3 (%7.8)	35 (%92.1)	-	4(%11.4)	31(%88.5)	-	2 (%14.2)	12 (%85.7)
CRO	-	1 (%2.6)	34 (%89.4)	-	1(%2.8)	34(%97.1)	-	2 (%14.2)	12 (%85.7)
FEP	-	6 (%15.7)	32 (%84.2)	-	5(%14.2)	30(%85.7)	-	4 (%28.5)	10 (%71.4)
ETP	38 (%100)	-	-	35(%100)	-	-	13 (%92.8)	--	1 (%7.1)
MEM	38 (%100)	-	-	35(%100)	-	-	13 (%92.8)	1 (%7.1)	
AK	29 (%76.3)	7 (%18.4)	2 (%5.2)	30(%85.7)	4(%11.4)	1(%2.8)	10 (%71.4)	4 (%28.5)	
CN	20 (%52.6)		18 (%47.3)	16(%45.7)		19(%54.2)	7(%50)		7(%50)
CIP	3 (%7.8)	5 (%13.1)	30 (%78.9)	3(%8.5)	8(%22.8)	24(%68.5)		5 (%35.7)	9 (%64.2)
TGC	34 (%89.4)		4 (%10.5)	14(%40)		21(%60)	6 (%42.8)		8 (%57.1)
CT	37 (%97.3)		1 (%2.6)	31(%88.5)		4(%11.4)	14 (%100)		
SXT	12 (%31.5)		26 (%68.4)	10(%28.5)		25(%71.4)	2 (%14.2)		12 (%85.7)

ESBL pozitif olarak tespit edilen 38 *E. coli* örneğinin tamamının ampisilin, sefuroksim aksetile dirençli olduğu seftazidim (%92.1; 35/38), seftriakson (%89.4; 34/38), sefepim (%84.2; 32/38), amoksisilin klavulonik asit (%84.2; 32/38) ve trimetoprim sulfametoksazol dirençlerinin de (%68.4; 26/38) oldukça yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. ESBL pozitif *E. coli* kökenlerinde ertapenem ve meropenem direncine rastlanmazken 1 izolat kolistine (%2.6; 1/38) 2 izolatta (%5.2;

2/38) amikasine dirençli olarak tespit edilmiştir. ESBL pozitif olarak tespit edilen toplam 35 *K. pneumoniae* izolatının tamamının ampisilin ve sefuroksim aksetile dirençli olduğu, sefalosporinlerden seftriakson (%97.1; 34/35), seftazidim (%88.5; 31/35) ve sefepime de (%85.7; 30/35) yüksek oranlarda direnç olduğu tespit edilmiştir. ESBL pozitif *E. coli* kökenlerinde olduğu gibi ESBL pozitif *K. pneumoniae* izolatlarında da ertapenem ve meropenem direnç gözlenmezken 1 kökende amikasin direnci (%2.8; 1/35) saptanmıştır. ESBL pozitif *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direnci (%11.4; 4/35) ise *E. coli* kökenine kıyasla (%2.6; 1/38) daha yüksek bulunmuştur. ESBL pozitif bulunan *K. oxytoca* izolatlarının tümünün (n=14) ampisilin ve sefuroksim aksetile karşı dirençli olduğu ve trimetoprim/sulfametoksazol (%85.7; 12/14), amoksisilin klavulonik asit (%78.5; 11/14) ile seftazidim (%85.7; 12/14), seftriakson (%85.7; 12/14) ve sefepim (%71.4; 10/14) gibi sefalosporinlere karşı da yüksek direnç gösterdiği saptanmıştır. İzole edilen ESBL pozitif *K. oxytoca* suşlarının meropenem, amikasin ve kolistin ajanlarına karşı dirençli olmadıkları saptanmıştır (Tablo 24).

Toplam 6 *qnrA* pozitif izolatın 2'si *K. oxytoca* izolatlarında tespit edilirken bu 2 izolatın aynı zamanda ESBL pozitif olduğu görülmüştür. Geri kalan 4 *qnrA* pozitif izolat *E. coli* suşlarında tespit edilmiş olup bunların 2'si ESBL pozitif olarak bulunmuştur. Toplam 34 *qnrB* pozitif izolatın 16'sı *K. pneumoniae* izolatlarında tespit edilmiş olup bunların da 15'i (%93.7; 15/16) ESBL pozitif olarak bulunmuştur. 13 *qnrB* pozitif *E. coli* izolatının 7'si (%53.8; 7/13), 5 *K. oxytoca* izolatının 4'ü (%80; 4/5) ESBL pozitif olarak saptanmıştır. Toplam 23 *qnrS* pozitif izolatın 11'i *K. pneumoniae* izolatlarında tespit edilirken, bunların 8'inin (%72.7; 8/11) ESBL pozitif olduğu görülmüştür. *QnrS* pozitif 7 *E. coli* izolatının 5'i (%71.4; 5/7) ve 5 *qnrS* pozitif *K. oxytoca* izolatının 4'ü (%80; 4/5) ESBL pozitif olarak saptanmıştır. Görüldüğü üzere *qnrB*, *qnrS* kinolon direnç genlerine sahip *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* izolatlarında aynı zamanda ESBL üretiminin yüksek oranlarda olduğu tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Çok ilaca dirençli bakterilerin küresel olarak yayılması, yaygın olarak kullanılan antimikrobiklerin kullanımını sınırlamaktadır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında dirençli organizmaların hızlı bir şekilde tanımlanması klinisyenlere uygun antimikrobiyal tedavileri seçme konusunda katkı sağlamaktadır.

Karbapenemler, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* dahil olmak üzere hastane ile ilişkili Gram negatif patojenler tarafından meydana gelen ciddi enfeksiyonların tedavisi için tercih edilen ilaçlardır. Karbapenemlerin artan kullanımına paralel olarak karbapenem dirençli organizmalar da ortaya çıkmaya başlamıştır. *Enterobacteriaceae* türlerindeki karbapenem direnci büyük ölçüde sınıf A, B ve D β -laktamazlara ait karbapenemaz geni kaynaklıdır (181). *Klebsiella pneumoniae* karbapenemazlar, A sınıfı karbapenemazlar olup plazmitler tarafından kodlanan ve en yaygın olanlarıdır. Son yıllarda birçok KPC geninin (*blaKPC*) varyantı bildirilmiştir. Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* türleri önemli nozokomiyal patojenler olarak ortaya çıkmış ve Amerika Birleşik Devletleri, İsrail ve Yunanistan'da belirgin olmak üzere tüm dünyaya yayılmıştır (182). CDC, sağlık hizmetleri ile ilgili enfeksiyonlar arasında karbapenem dirençli *Klebsiella* izolatların oranının 2000 yılında %1'den az olmasına karşın, 2007'de %8'lere kadar çıktığını bildirmiştir (183). Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* üreten özel bir klonal soy olan sekans tip (ST) 258'in, birçok ülkede *blaKPC* genlerinin yayılmasına katkıda bulunduğu belirlenmiştir (184).

Escherichia coli ve *Klebsiella pneumoniae* *Enterobacteriaceae* grubu üyesi olan önemli insan patojenleridir. İdrar yolu, solunum yolu, kan dolaşımı, karın içi ve cilt ile yumuşak doku enfeksiyonları gibi çok çeşitli hastalıklara neden olabilirler. Bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi genişlemiş spektrumlu beta laktamaz ve/veya Amp C beta laktamaz ekspresyonu nedeniyle gün geçtikçe

zorlaşmaktadır (185). Yaygın olarak kullanılan genişlemiş spektrumlu β -laktamların yanı sıra, bu izolatlar aynı zamanda florokinolonlar ve aminoglikozitler dahil olmak üzere diğer antibiyotik sınıflarına da yüksek oranlarda direnç göstermektedirler. Bu nedenle karbapenemler bu çok ilaca dirençli izolatların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde son tercih edilen ajanlar olmuşlardır.

Enterobacteriaceae içinde karbapenem direnci yıllar içinde farklı bölgelerde kademeli olarak artışlar göstermektedir. Karbapenemlere dirençli *Enterobacteriaceae*'ların ortaya çıkması endişe vericidir, çünkü tedavi seçenekleri çok sınırlıdır. *Enterobacteriaceae* üyeleri arasındaki karbapenem direncinin mekanizmaları arasında ESBL ve/veya Amp C enzimlerinin üretimi, dış zar protein kaybı ya da efflux pompasının faaliyetinin artması ve karbapenemaz sentezi gibi faktörler yer almaktadır. *Enterobacteriaceae*'lar arasında *K. pneumoniae* karbapenemase (KPC) ve New-Delhi metallo- β -laktamase 1 (NDM-1) tipi karbapenemazlar en dikkat çekici olanlarıdır. Bu tip karbapenemazlar yüksek seviyede karbapenem direnci sağlayabilmekte ve bu enzimleri kodlayan genler çoğunlukla plazmid kaynaklı olup dünyada farklı *Enterobacteriaceae* türleri arasında görülebilmektedir (185).

Gram-negatif basiller tarafından oluşturulan enfeksiyonlar hastanede yatan hastalarda, özellikle yaygın olarak invaziv mekanik ventilasyon gerektiren kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) olan hastalarda sık görülmektedir. Ventilatöre bağlı pnömoni (VAP) gelişen KOAH'lı hastaların VAP'sız KOAH hastalarına göre daha yüksek mortalite oranlarına sahip oldukları bildirilmiştir (186). Karbapenemler, çoklu ilaca dirençli GNB enfeksiyonları için en kritik tedavi olarak önerilmektedir. Ancak karbapenemlerin GNB'deki direnci dünya çapında hızla artmaktadır (187). Karbapenemaz kodlayan genler plazmid ve transpozonlar aracılığı ile kolayca transfer edilebilmektedirler. Karbapenemlere dirençli GNB taşıyıcılığı ve enfeksiyonları yaş, hastanede yatış öyküsü, hastanede uzun yatış süresi, antibiyotik kullanımı ve karbapenemlere önceden maruz kalma gibi risk faktörleriyle ilişkilidir (188). Bu nedenle karbapenem-dirençli GNB'ler hastanede yatan hastaların nozokomiyal enfeksiyonlarıyla yakından ilişkili olabilmektedirler. Bununla birlikte,

uzun süre hastanede yatan hastalarda karbapenem dirençli GNB enfeksiyonları konusunda yapılan çalışmaların sayısı sınırlıdır.

KPC tipi enzimler genellikle *Klebsiella pneumoniae*'de karşılaşılan en yaygın A sınıfı karbapenemazlardır. *KPC* barındıran *K. pneumoniae*'nin neden olduğu hastane salgınları ilk olarak 2000'lerin başında Kuzeydoğu ABD'de tanımlanmış, kısa süre içinde dünyanın birçok ülkesinde varlığını gösteren çalışmalar bildirilmeye başlanmıştır (166). *K. pneumoniae*'deki *blaKPC-2* geni plazmidler tarafından taşınır ve bir Tn3 türevi transpozon olan Tn4401 ile ilişkilidir (167).

Klebsiella pneumoniae karbapenemaz (*KPC*) enzimleri en sık *K. pneumoniae*'de tespit edilse de, *E. coli* kökenlerinde de giderek artan sıklıkta bildirilmektedir. *KPC-2* üreten *E. coli* ilk olarak 2006'da bildirilirken (170), sonraki yıllarda *E. coli*'deki *KPC* tipi enzimler Amerika Birleşik Devletleri, İsrail, Fransa ve Çin'den rapor edilmiştir (189). Amerika Birleşik Devletleri'nde imipenem tedavisi alan bir hastada *KPC-3* üreten *E. coli* vakası bildirilmiştir (190). Türkiye'de ilk *KPC* tipi karbapenemaz pozitifliği *K. pneumoniae* izolatlarında tespit edilmiştir (191). Daha sonra karbapenemaz üreten iki *K. pneumoniae* izolatu daha Türkiye'den rapor edilmiştir (192). OXA-48 karbapenemaz Türkiye'de ilk olarak 2001 yılında *Enterobacteriaceae* ailesinde tanımlanırken, günümüzde endemik olduğu bilinmektedir (193).

Türkiye'de klinik örneklerden elde edilen *Escherichia coli* izolatlarında karbapenem direnci ve karbapenemaz üretiminin araştırıldığı bir çalışmada *E. coli* izolatları arasında karbapenem direncinin %0.6 olduğu bildirilmiştir. Dirençli olduğu tespit edilen 24 izolattan 5'inde OXA-48 geni, 2 izolatta da *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz (*KPC*)-2 geni pozitifliği tespit edilmiştir. *KPC-2* pozitif olarak 2 suş tespit edilirken bu suşların ikisi de aynı hastadan izole edilmiştir (194). Bizim çalışmamızda ise karbapenem grubundan ertapenem ve meropenem direnci *K. pneumoniae* suşlarında sırasıyla %16.1 (11/68) ve %11.7 (8/68) olarak tespit edilmiştir. *K. oxytoca* suşlarında meropeneme direnç saptanmamış, ertapeneme karşı 1 izolatta direnç saptanmıştır (%4.5; 1/22). *E. coli* suşlarında ise ertapenem direnci %6.7 (5/74), meropenem direnci ise %2.7 (2/74) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda karbapenem direncinin yüksek olmasını örneklerin %17.1 (28/164)

kadarının yoğun bakım ünitelerinden toplanan örnekler olmasına bağlayabiliriz. Ayrıca bizim çalışmamızda *KPC-2* direnç genine rastlanmamıştır. Fenotipik olarak karbapenem dirençli olarak saptanan suşlarda başka karbapenem direnç genleri ve/veya mekanizmaların olduğunu düşünmekteyiz.

Karbapenemler geleneksel olarak en ciddi bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için ayrılan güçlü ve geniş spektrumlu beta-laktam grubu antibiyotiklerdir. *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizmlarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin artması, karbapenemlerin tüketiminin artmasına da yol açmıştır. Son on yılda karbapenemlerin tedavide yaygın kullanımı sebebiyle karbapenem-dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarının (CRE) ortaya çıkması ciddi problemlere yol açmaktadır (162). Karbapenemlere en dirençli *Enterobacteriaceae* üyeleri arasında *Klebsiella pneumoniae* yer alırken bunu *Escherichia coli* ve *Enterobacter* türlerinin takip ettiği bildirilmektedir (163). Bu dirençli mikroorganizmalar tarafından oluşturulan enfeksiyonlarda mortalite oranlarının oldukça yüksek olduğu da bildirilmektedir (162).

Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak karbapenem grubundan meropenem direncinin *K. pneumoniae* izolatlarında (%11.7) *E. coli* izolatlarına (%2.7) göre daha yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Bir çalışmada kan kültürlerinden izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının karbapenem direnci 2001 yılında sıfır iken 2008 yılı sonunda %13.6 oranında tespit edilmiştir (195). *E. coli* izolatlarında ise karbapenem direnç oranının 1999'da %0.1 iken 2007'de %1.7'ye yükseldiği bildirilmiştir (196). Yine bir başka çalışmada yoğun bakım ünitelerinde CRE izolatlarında direnç oranının 2003'te %1.4 iken 2009'yılında %4.5'e kadar çıktığı bildirilmiştir (197). YBÜ'lerinde hastalar özellikle CRE ile kolonizasyon ve enfeksiyona daha meyilli olup, YBÜ'lerinde uzun süreli kalış CRE edinimi için önemli bir risk faktörüdür (198). Tayvan'da *K. pneumoniae* izolatlarındaki *Klebsiella pneumoniae* karbapenemase-2 (*KPC-2*) direnç geni salgınında, vakaların %87.5'inin YBÜ'lerinden yayıldığı bildirilmiştir (199).

YBÜ'lerinde karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* enfeksiyonu olan hastaların klinik ve mikrobiyolojik özelliklerinin araştırıldığı bir

çalışmada, izolatlar antibiyotik duyarlılığı ve beta-laktamaz genleri açısından taranmıştır. Bunun sonucunda karbapenem dirençli *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında karbapenemaz-2, imipenemaz-8, Verona integron kodlu metalo-b-laktamaz ve Yeni Delhi metalo-b-laktamaz-1 genlerinin varlığına rastlanmıştır ve karbapenemaz kodlayan gen varlığının %28.8 oranında olduğu saptanmıştır. Ayrıca karbapenem dirençli *K. pneumoniae* ve *E. coli* ile ilişkili hastane içi mortalitenin ise %50 olduğu bildirilmiştir (200). Bizim çalışmamızda *KPC-2* genine rastlanmamıştır.

Sefalosporinlerin yoğun kullanımı, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlara sahip *Enterobacteriaceae* üyesi mikroorganizmaların ortaya çıkmasına ve yayılmasına yol açmaktadır. Karbapenemler bu tür bakterilerin neden olduğu ciddi enfeksiyonları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* türleri klinik ortamlarda nadir görülse de son zamanlarda karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* türü bakterilere, özellikle de karbapenemaz üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarına sık rastlanmaktadır.

Kırk karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatının dahil edildiği bir çalışmada izolatların karbapenemlere karşı MİK değerlerinin 16-256 µg/ml arasında değiştiği ve özellikle *qnr* gen prevalansının bu *KPC-2* üreten izolatlarda oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (%70.0) (201). Bizim çalışmamızda karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının MİK aralığının ertapenem için 2-8 µg/ml, meropenem için 8-16 µg/ml arasında değiştiği tespit edilmiştir. Karbapenem dirençli *E. coli* suşlarının MİK aralığının ise ertapenem için 1-8 µg/ml, meropenem için 8-16 µg/ml arasında değiştiği tespit edilmiştir. Ertapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarının %27.2'sinde (3/11) *qnrS* kinolon direnç geni tespit edilmiştir. Ertapenem dirençli *E. coli* izolatlarının ise %60'ında (3/5) *qnrB*, %20'sinde *qnrS* kinolon direnç geni tespit edilmiştir. Meropenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının %25'inde (2/8) kinolon direnç genlerinden *qnrS* geni tespit edilmiştir. Meropenem dirençli *E. coli* izolatlarının %50'sinde (1/2) *qnrB*, %50'sinde (1/2) *qnrS* tespit edilmiştir.

Enterobacteriaceae'lar arasında karbapenem direncinin yayılması büyük bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir. Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* türleri karbapenemler dahil çoğu β-laktam grubu antibiyotiklere karşı dirençli olup,

sıklıkla β -laktam grubu dışındaki diğer antibiyotiklere de direnç sağlayan ilave antimikrobiyal direnç genleri de taşımaktadırlar (83).

Enterobacteriaceae türlerindeki karbapenem direncinden iki ana mekanizma sorumludur. İlk mekanizma genişlemiş spektrumlu bir beta-laktamaz veya Amp C-tipi beta-laktamaz üretimi ile birlikte porin kaybı ve azalmış dış membran geçirgenliğidir. Diğer mekanizma ise karbapenemleri hidrolize edebilen beta laktamazların (karbapenemazlar) üretimi şeklindedir (202). Karbapenemazları kodlayan genler plazmitler ve transpozonlar gibi hareketli elemanlar aracılığıyla farklı suşlar ve türler arasında transfer edilebilmektedir (203).

Enterobacteriaceae türleri arasında karbapenem direncinin artması hastanede ve toplumda çok ilaca dirençli ve yüksek riskli klonal soyların yayılımına neden olmuştur. Ayrıca karbapenem direncinin ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin bir arada bulunup bulunmadığı sıkça araştırılmıştır (204). Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinin yayılımına özellikle hastanede yatan ve bu dirençli suşlar ile kolonize olan yaşlı hastaların katkı sağlayabileceği bildirilmiştir (205).

Neredeyse tüm antibiyotiklere dirençli olan karbapenem dirençli bakterilerin sıklığının artması büyük endişeye neden olmaktadır. Karbapenem direncine neden olan mekanizmalar arasında yer alan *NDM* veya *KPC* gibi karbapenemazlar hızlı küresel yayılımları nedeniyle sıklıkla araştırılmaktadır (206). İlginç olarak *Klebsiella spp* ve *Acinetobacter spp*'deki sırasıyla *KPC* veya *OXA* tipi karbapenemaz'ı kodlayan karbapenem direnç genlerinin yüksek oranda türe özgü olduğu kabul edilmektedir. Bu türlere özgü karbapenemazlardan özellikle *KPC*, bazen *Pseudomonas spp.* ve *Acinetobacter spp.* gibi diğer bakterilerde gözlenmektedir (207). Daha önce yapılan çalışmalarda *blaKPC* taşıyan plazmidin *Klebsiella* türleri içinde konjugatif olarak transfer edilebileceği, ancak *Escherichia coli*'ye aktarılmadığı ve *K. pneumoniae* ile birlikte kültürlenmediği sürece aktarımın olmayacağı bildirilmiştir (208). Ancak sonraki çalışmalarda, *K. pneumoniae*'da olduğu kadar yaygın olmasa da *KPC* üreten *E. coli* suşlarının da hastalardan izole edilebildiği bildirilmiştir (209).

KPC tipi beta-laktamazlar temel olarak *Klebsiella pneumoniae*'da meydana gelen karbapenemaz aktivitesine sahip, farklı bir plazmid kaynaklı enzim grubunu içerir. *KPC* üreten *Enterobacteriaceae* türleri ilaç dirençlerine neden olmakta ve yüksek mortalite ile ilişkili enfeksiyonlara yol açmaktadırlar. (210).

Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinin neden olduğu ventilatöre bağlı pnömoni (VAP) enfeksiyonu yaygınlaşmakta olup hastalar açısından büyük risk oluşturmaktadır. VAP 48 saat üzerinde mekanik ventilasyona maruz kalan hastalarda ortaya çıkan komplike bir akciğer parankimal enfeksiyonudur. Bu durum mekanik ventilasyon sırasında görülen yaygın ve ciddi komplikasyonlardan biri olup hastanın prognozunu etkileyen ana unsurlardan biridir (211). *Enterobacteriaceae* türleri VAP'a neden olan en yaygın bakteriler olup karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* türleri çoğu antibiyotiğe karşı yüksek direnç oranları nedeniyle VAP hastalarında önemli bir endişe kaynağı haline gelmiştir. Özellikle VAP'lı hastalarda meydana gelen karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* enfeksiyonları yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkilidir (212). Polimiksin ile kombine yüksek doz meropenem kullanılması bu tür bakterilerin neden olduğu VAP tedavisi için sınırlı bir seçenek haline gelmiştir. Polimiksin dirençli suşların ortaya çıkması CRE enfeksiyonlarının tedavisini giderek daha zor bir hale getirmektedir (213).

Çalışmamızda solunum yolundan izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem grubundan ertapenem ve meropenem dirençlerinin her ikisi de %21 (4/19) oranında saptanmıştır. *E. coli* izolatlarında ise ertapenem ve meropenem dirençlerinin sırasıyla %14.2 (2/14) ve %7.1 (1/14) olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlerin literatürle uyumlu olarak geçmiş yıllara göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda karbapenem direncinden sorumlu genlerden biri olan *KPC-2* genine rastlanmamıştır. Yani fenotipik olarak direnç tespit edilirken genotipik olarak direnç tespit edilmemesi direncin çalıştığımız genler dışında bazı direnç genleri ve/veya mekanizmalara bağlı olabileceğini düşündürmüştür.

Enterobacteriaceae bakterilerinin karbapenemlere karşı direnç mekanizmaları çok karmaşıktır. Bununla birlikte birincil mekanizmalar şu tipleri içerebilir: i. Esas olarak *KPC* ve *OXA-48* dahil olmak üzere karbapenemazların üretimi ii. Amp C enzimi veya genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakterilerde porin kaybı

veya azalan ekspresyonu sonucunda dış membran permeabilite azalması iii. Karbapenem ilaç etki bölgesinde penisilin bağlayıcı proteinlerde değişiklikler gibi mekanizmaları içermektedir (214).

Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* gibi çok ilaca dirençli Gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlardaki artış, dünya genelinde son çare antibiyotik tedavi seçenekleri olarak bilinen polimiksinlerin önemini arttırmıştır. Bununla birlikte Gram negatif patojenlerde polimiksin direnci tespit edilmiştir. Polimiksinlerdeki direnç mekanizması, polimiksin afinitesinin azalmasına neden olan lipit A'nın modifikasyonu şeklindedir. Rapor edilen polimiksin direnç mekanizmalarının hemen hepsi kromozomal olarak PmrAB veya PhoPQ iki bileşenli düzenleyici sistemlerdeki mutasyonlar, lipopolisakkarit kaybı veya MgrB inaktivasyonu aracılığıyla gerçekleşmektedir (215). Liu ve meslektaşları Çin'deki bir çalışmada, *Enterobacteriaceae* üyeleri arasında plazmid aracılı kolistin direnci ile ilişkili olan *mcr-1* genini keşfetmişlerdir (23). *Mcr-1* taşıyıcılığını çığ et örneklerinden elde edilen *E. coli* izolatlarının % 15'inde ve hayvanlardan alınan örneklerin % 21'inde, enfeksiyonlu hastalardan alınan örneklerin ise % 1'inde tespit etmişlerdir (23). *Mcr-1*, fosfoetanolamin transferaz enzim ailesinin bir üyesidir ve *E. coli*'de ekspresyonu ile lipit A'ya fosfoetanolamin ilavesi gerçekleşir. *Mcr-1*'in plazmid aracılı direnç mekanizması olarak tanımlanması, kolistine direncin sadece kromozomal mutasyonlarla değil aynı zamanda horizontal transmisyonla da yayılabileceğini göstermektedir.

Plazmid aracılı kolistin direnç geni *mcr-1*, hayvanlar ile yiyeceklerde bulunan mikroorganizmalardan izole edilmiştir. *Mcr-1* geni Çin, Avrupa, ABD gibi ülkeler başta olmak üzere diğer ülkelerde de insanlardan izole edilen *Enterobacteriaceae* türlerinde tespit edilmiştir (216). *Mcr-1*'e %76,7 oranında nükleotid benzerliğine sahip olan *mcr-2* geni bir başka plazmid aracılı kolistin direnç genidir (216).

Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* türlerinin neden olduğu ciddi enfeksiyonlar için tedavi seçenekleri azdır. Kolistin, bu enfeksiyonların tedavisi için değerli bir antimikrobiyal ajandır. Ancak mevcut antibiyotiklere artan direnç oranı tedavi seçeneklerini daha da sınırlamaktadır (217).

Kan dolaşımı enfeksiyonlarından izole edilen *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarında *mcr 1* prevalansının araştırıldığı bir çalışmada, *E. coli* izolatlarında %1

oranında *mcr-1* pozitifliği tespit edilirken, *K. pneumoniae* izolatlarının ise %1'inden daha azında *mcr-1* pozitifliği tespit edilmiştir. Çalışmada tüm *mcr-1* pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarında MİK değerlerinin 4-32 mg/L aralığında olduğu görülmüştür (218).

Çalışmamızda *K. pneumoniae* ve *E. coli* kökenlerinde kolistin direnci sırasıyla %7.3 (5/68) ve %2.7 (2/74) olarak tespit edilirken, *K. pneumoniae* izolatlarında kolistine karşı MİK değerlerinin 0,125-64 µg/ml aralığında, *E. coli* izolatlarında ise 0,25-4 µg/ml aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Bunun yanında gerek idrar yolu ve gerek solunum yolu örneklerinden elde edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarında *mcr-1* direnç genine rastlanmamıştır. Fenotipik olarak tespit ettiğimiz kolistin direncinin sebebi muhtemelen *mcr-1* dışında kalan direnç genlerine ya da mekanizmalara bağlı olarak gelişmiştir.

Enterobacteriaceae türlerinde kolistin direncinin prevalansını belirlemek amacıyla yapılan başka bir çalışmada plazmid tarafından kodlanan *mcr-1* ve *mcr-2* kolistin direnç genlerinin tespiti yapılmıştır. Çalışmada *Enterobacteriaceae* türlerinde kolistin direnç oranı %0.7 olarak belirlenirken, bu oran *Escherichia coli* izolatlarında %0.5, *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında ise %0.4 olarak tespit edilmiştir. İzolatların üçte biri çok ilaca dirençli bulunmuştur (MDR). Çalışmada sadece 1 *E. coli* izolatında (<%0.1) *mcr-1* gen varlığı tespit edilirken, *mcr-2* direnç genine rastlanmamıştır. Enfeksiyonların %23'ü toplum kökenli, hastaların %89'u ise daha önce kolistin kullanmayan hastalar idi (219).

Son zamanlarda plazmid aracılı kolistin direnç geni olan *mcr-1*'in ortaya çıkması önemli bir problemdir. *Mcr-1* pozitif CRE'nin (Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae*) yol açtığı enfeksiyonlar ise ciddi bir tehdit oluşturmaktadır.

Çok ilaca dirençli (MDR) ve yaygın olarak kullanılan ilaçlara dirençli (XDR) Gram negatif bakterilerde antibiyotik direncindeki radikal artış şiddetli küresel bir tehdit oluşturmuştur. Özellikle de karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* türleri halk sağlığı için en ciddi küresel tehditlerden biridir. Bu bakteri enfeksiyonlarını tedavi etmek için yeni ve etkili antibiyotiklere acilen ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak yeni antimikrobiyal ajanların gelişme hızı son yıllarda azalmıştır. Bu nedenle bu enfeksiyonlar için kullanılan başlıca klinik ilaçlar kolistin (polimiksin E) ve

polimiksin B'yi içeren polimiksinlerdir (220). İnsan klinik kemoterapisinde genellikle polimiksin B ve polimiksin E monoterapi olarak kullanılmamakta, çünkü esas olarak önerilen doz protokolleri ile yeterince yüksek konsantrasyonlar elde etmek için gereken doz artışının ciddi nefrotoksisiteye sebep olma riskinin bulunmasıdır (221).

Lipopolisakkaritin (LPS) bir bileşeni olan lipid A'yı fosfoetanolamin ile değiştiren, plazmid aracılı ve transfer edilebilen kolistin direnç geni *mcr-1*'in keşfedilmesi, hedef bakterilere polimiksin bağlanmasını önlemektedir. *Mcr-1* genine sahip izolatlar 40'tan fazla ülkede çeşitli hayvanlarda, etlerde, sebzelerde ve insanlarda tanımlanmıştır (222). *MCR-1* ve *NDM-1* taşıyan klinik *E. coli* izolatı, ZJ478, Çin'de artan bir oranda tanımlanırken, *MCR-1* ve *NDM-5*'i birlikte üreten *E. coli* izolatları da (*MCR1_NJ*) Amerika Birleşik Devletleri'nde keşfedilmiştir (223). Bu keşifler insanlığın bu klinik bakteri enfeksiyonları için uygun antibiyotiğin bulunmadığı bir döneme doğru gidildiğinin bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Kolistin direnci çoğunlukla polimiksinin birincil hedefi olan LPS grubunun lipid A tabakasında bir modifikasyon sonucu gerçekleşmektedir. Önemli olarak *mcr-1* gen yayılımı plazmid aracılığı ile de olduğu için polimiksinlere direnç sadece kromozomla ilişkili olmayıp aynı zamanda horizontal geçişle de sağlanabilmektedir (224).

Enterobacteriaceae dahil olmak üzere çok ilaca dirençli Gram negatif bakterilerden kaynaklanan enfeksiyonlar özellikle de az sayıda antimikrobiyal maddeye duyarlı karbapenemaz üreten izolatlardan kaynaklanan enfeksiyonlar halk sağlığı açısından önem arz etmektedir. Polimiksinler, karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar için tarihsel olarak son çare antibiyotik tedavi seçeneği olarak kabul edilmiştir. Kolistin (polimiksin E) ve diğer polimiksinler, bakteriyel lipopolisakkarite bağlanarak hücre zarından hücre içi bileşenlerin sızmasına neden olan katyonik peptitlerdir. Bununla birlikte artan kolistin kullanımı küresel olarak Gram-negatif patojenlerde kolistin direncinin ortaya çıkmasına ve gittikçe artmasına neden olmaktadır (17). Kolistin direncinin ortak mekanizmasının genellikle kromozom kodlu PmrA/PmrB ve PhoP/PhoQ iki bileşenli düzenleyici sistemler ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu düzenleyici

sistemlerdeki değişiklikler, pozitif yüklü 4-amino-4-deoksi-L-arabinoz (L-Ara4N) ve fosfoetanolamin moleküllerinin LPS'ye eklenmesine ve böylece LPS hedefinin modifikasyonuna neden olmaktadır. Bunun neticesinde de dış bakteri duvarının negatif yükü azalarak kolistinle etkileşimin yoğunluğu azalmaktadır (225). *Mcr-1* geni mikroorganizmada fosfoetanolamini lipit A'ya transfer ederek kolistine direnç sağlayan bir lipit A fosfoetanolamin transferazı kodlayan plazmid aracılı bir direnç genidir. Kısa bir süre zarfında *mcr-1* genini taşıyan kolistin dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinin özellikle de *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'nin, dünya çapında gıda üreten hayvanlardan, insanlardan ve çevreden izole edildiği bildirilmiştir (173).

Escherichia coli ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında *mcr-1* prevalansının araştırıldığı bir çalışmada *E. coli* izolatlarında kolistin MİK aralığının 0.5-32 mg/L ve *mcr-1* geni varlığının ise %29.7 olduğu, *K. pneumoniae* kökenlerinde kolistine karşı MİK aralığının 0.25-> 128 mg/L ve *mcr-1* geni frekansının ise %1.4 olduğu bildirilmiştir (226). Bizim çalışmamızda ise *K. pneumoniae* izolatlarında MİK aralığı 0,125-64 µg/ml, *E. coli* kökenlerinde ise 0,25 µg/ml-4 µg/ml aralığında belirlenmiştir.

Türkiye'de 22 merkezden toplam 329 *Enterobacteriaceae* izolatının dahil edildiği bir çalışmada 273 kolistin dirençli izolatta *mcr-1* ve *mcr-2* genleri tespit edilememiştir (227). Bu çalışmayla uyumlu olarak biz de çalışmamıza dahil ettiğimiz hiçbir *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatında *mcr-1* geni varlığına rastlamadık.

Yakın zamana kadar kolistin direnç mekanizmaları, yüksek düzeyde uygunluk sağlayan mikroorganizmalar arasında transfer edilemeyen kromozomal mutasyonlarla sınırlıydı. Fakat *mcr-1* geni tarafından kodlanan yeni bir plazmid aracılı kolistin direnç mekanizması tanımlanmış ve o zamandan beri dünyanın çeşitli bölgelerinde tespit edilmiştir. *Mcr-1* geni, kolistin direncinin yüksek oranda uyumlu olmayan mikroorganizmalar arasında yayılmasına neden olabileceği için ciddi ve büyük bir tehdittir. Kolistin direnç mekanizmalarının sürveyansı, direnç gelişiminin ve yayılmasının izlenmesi için kritik öneme sahiptir. Kolistin dirençli *E. coli* ve *Klebsiella spp.* izolatlarında plazmid aracılı kolistin direnç geni olan *mcr-1* prevalansının ve kolistin direncinin klonal genişleme yoluyla mı yoksa çeşitli suşlar

tarafından edinim yoluyla mı yayıldığını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada 12 *E. coli*, 6 *K. pneumoniae* ve 1 *K. oxytoca* izolatı içeren 19 kolistin dirençli izolat tespit edilmiştir. *Mcr-1* geninin ağırlıklı olarak birbiriyle ilişkisiz suşlar olarak gösterilen izolatların %83'ünde tespit edildiği bildirilmiştir (24).

Kolistin dirençli olarak tespit edilen izolatların çoğunluğunu *E. coli* ve *Klebsiella* suşları oluşturmaktadır. Kolistin direnci klonal olarak yayılmamakta ve *mcr-1* geni birbiri ile ilişkisiz *E. coli* ve *K. pneumoniae*'nin çeşitli suşları tarafından edinilmektedir. *Mcr-1*'in sefalosporin ve karbapenem dirençli Gram negatif bakteriler tarafından alınması, tedavi edilemeyen enfeksiyonlara ve mortalitenin artmasına neden olabilmektedir. Kolistinin sağlık tesislerinde ve tarımda antimikrobiyal etkinliğini korumak için kullanımını kontrol edilmeli ve önlemler alınmalıdır (24).

Kanada'da *E. coli* klinik izolatları arasındaki kolistin direncinin sıklığını değerlendirmek ve *mcr-1* geninin kolistine dirençli kökenler arasında varlığını araştırmak için yapılan bir çalışmada, 5571 *E. coli* klinik izolatı arasında 12 izolat (% 0.2) kolistine karşı dirençli bulunmuş, 2 kolistin dirençli izolatın ise (% 0.04) *mcr-1* geni taşıdığı tespit edilmiştir (228).

Mcr-1, plazmidler aracılığıyla horizontal olarak transfer edilebilen ilk plazmid aracılı kolistin direnç genidir (229).

Klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* türleri arasındaki *mcr-1* geninin prevalansını değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada 423 CRE izolatı *mcr-1* gen varlığı açısından taranmış, çalışmada sadece dört (%0.9) karbapenem dirençli *Escherichia coli* izolatının *mcr-1* geni taşıdığı tespit edilmiştir. CRE izolatları arasında *mcr-1* geni *E. coli* izolatlarında tespit edilmiştir (230).

Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* ile gelişen enfeksiyonların tedavisinde yaşanan kısıtlılıklar, son yıllarda yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkilendirilmektedir. Bu enfeksiyonlara karşı son seçenek ilaç olarak görülen kolistinin yaygın kullanımı sonucu kolistin direncinde artış görülmektedir. Türkiye'de çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve karbapenem direnci saptanan 81 *K. pneumoniae* izolatının kolistin direnç oranı %39.5 olarak tespit edilmiştir. Yüksek kolistin direnç oranları çoklu ilaç dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavilerinde sorun yaşanmasına neden olmaktadır (231).

2014-2016 yılları arasında dünya çapında 908 hastadan izole edilen kolistine dirençli *Enterobacteriaceae* izolatları plazmid kaynaklı *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* ve *mcr-5* genlerinin varlığı açısından taranmıştır. Bu çalışmada toplanan örneklerin %3.2'sinin (29/908) *mcr* genleri açısından pozitif olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatların 27'si *Escherichia coli*, 1'i *Klebsiella pneumoniae* ve 1'i *Enterobacter cloacae* izolatı olarak bildirilmiştir. Çalışmada *mcr* ailesinden en yüksek frekansta tespit edilen genin ise *mcr-1* geni olduğu bildirilmiştir (232).

Florokinolonların kullanıma girmesinden bu yana, *Enterobacteriaceae* türleri arasındaki florokinolon direnci esas olarak DNA giraz veya topoizomeraz IV'ü kodlayan kromozomal genlerdeki mutasyonlar nedeniyle gözlenmiştir. İlk kez 1998'de, şu anda *qnrA1* olarak adlandırılan florokinolon direnci gösteren plazmid aracılı gen tanımlanmıştır (27). Bu gen DNA girazı ve topoizomeraz IV'ü florokinolonlardan koruyan proteini kodlamaktadır. Yedi *qnrA*, 74 *qnrB*, 9 *qnrS*, 1 *qnrC*, 2 *qnrD* ve 6 *qnrVC* geni 2014 itibariyle tanımlanmıştır. Ayrıca siprofloksasin aktivitesini azaltabilen bir aminoglikozit asetil transferaz varyantı olan *aac (60) -Ib-cr* ve bir efflux pompası olan *qepA* diğer plazmid aracılı kinolon direnç genleridir (27).

Japonya'da seftazidime veya sefotaksime dirençli 150 *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* klinik izolatının değerlendirildiği bir çalışmada 24 *K. pneumoniae* izolatının 12'sinde (%50) *qnrB* ve 4'ünde (%16.7) *qnrS* genleri saptanırken, 126 *E. coli* izolatının 1'inde (%0,8) *qnrA* geni varlığı tespit edilmiştir. *Qnr* genleri temel olarak *K. pneumoniae*'da (%66.7) tespit edilirken, *E. coli* izolatlarındaki varlığı oldukça düşük olarak bulunmuştur (%0.8) (233). Bizim çalışmamızda da bu çalışmadan farklı olarak 68 *K. pneumoniae* izolatının 16'sında (% 23.5) *qnrB*, 11'inde (%16.1) *qnrS* geni varlığı tespit edilirken *qnrA* genine rastlanmamıştır. Yirmi iki *K. oxytoca* suşunun 2'sinde (%9) *qnrA*, 5'inde (%22.7) *qnrB*, 5'inde (%22.7) *qnrS* direnç genine rastlanmıştır. Yetmiş dört *E. coli* izolatının 4'ünde (%5.4) *qnrA*, 13'ünde (%17.5) *qnrB* ve 7'sinde (%9.4) *qnrS* direnç genleri tespit edilmiştir. Çalışmamızda solunum yolu *K. pneumoniae* izolatlarında kinolon grubundan siprofloksasin direnci %63.1 (12/19) olarak bulunurken, üriner sistem izolatlarında %48.9 (24/49) olarak bulunmuştur. Solunum yolu *E. coli* izolatlarında

kinolon gurubundan siprofloksasin direnci %78.5 (11/14) olarak tespit edilirken idrar yolu örneklerinde %63.3 (38/60) olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak solunum sistemi ve idrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen bakterilerin siprofloksasin direnç oranları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Çalışmamızda fenotipik direnç oranı *qnr* gen frekansının üzerinde tespit edilmiştir. Bu durum ilk bakışta tutarsız gibi görünse de kinolon direncine *qnr* genleri dışındaki diğer genler ya da mekanizmaların sebep olmuş olabileceğini söyleyebiliriz.

Son otuz yılda insan ve hayvanlardan izole edilen *Enterobacteriaceae* türleri arasındaki kinolon direnci dikkat çekici ölçüde artmıştır (27). Florokinolon direnci temel olarak kinolonların hedefi olan DNA gyrase ve topoizomeraz IV enzimlerini kodlayan kromozomal genlerdeki mutasyonlar sonucunda meydana gelmektedir. Üç plazmid aracılı kinolon direnç (PMQR) mekanizması da tarif edilmiştir: (i) Kinolon hedeflerini koruyan *qnr* proteinleri (ii) Sadece aminoglikozitleri değil aynı zamanda siprofloksasin ve norfloksasini asetilleyen *aac (6) - Ib-cr* enzimi ve (iii) *QepA* ve *oqxAB* plazmid aracılı dışa akış pompaları. *Qnr* proteinleri pentapeptid tekrar protein ailesine aittir, DNA giraz ve topoizomeraz IV'e bağlanmakta ve bunları kinolon inhibisyonundan korumaktadır. *Enterobacteriaceae* ailesinde *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC* ve *qnrD* genleri tarafından kodlanan beş tip *qnr* determinantı tanımlanmıştır (27).

Klebsiella pneumoniae ve *Escherichia coli* toplum kökenli, hastane kökenli ve fırsatçı enfeksiyonlara neden olan en yaygın organizmalar arasındadır. Kinolon direnci ile diğer antimikrobiyal maddelere, özellikle de beta-laktam ve aminoglikozitlere karşı direnç arasında çok yakın bir ilişkinin ortaya çıkması, bu enfeksiyonların yönetiminde kritik bir sorundur.

Plazmid aracılı kinolon direnç belirleyicileri olan *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *aac (6) - Ib-cr*'nin varlığının araştırılması için 382 genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatının değerlendirildiği bir çalışmada, 14 izolat (%3.7) *qnr* genleri açısından (3 *qnrA1*, 5 *qnrB* ve 6 *qnrS1*) pozitif olarak saptanmıştır (234).

Plazmid aracılı kinolon direnç genlerinin (*qnr*, *aac (6)-Ib-cr* ve *qepA*) prevalansının araştırıldığı bir çalışmada genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere

direnç gösteren izolatlar arasında *qnr* gen varlığı %14.4 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada *qnrB* 21 *Klebsiella pneumoniae*, 11 *Escherichia coli* ve 6 *Enterobacter cloacae* izolatında tespit edilirken, *qnrS* geni sadece iki *K. pneumoniae* izolatında tespit edilmiştir. *QnrA*, *qnrC* ve *qnrD* genleri 278 izolatın hiçbirinde tespit edilememiştir (235).

Kore'de üçüncü basamak bir hastanede hastalardan izole edilen siprofloksasin duyarlı olmayan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında plazmid aracılı kinolon direncinin prevalansını analiz etmek için bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaya toplam 102 non-dublike siprofloksasin orta duyarlı veya siprofloksasin dirençli *E. coli* (n = 80) ve *K. pneumoniae* (n= 22) izolatı dahil edilmiştir. Çalışmada 102 izolatın 81'inde (% 79.4) bir veya daha fazla kinolon direnç geni varlığı tespit edilmiştir. Bu 81 izolatın 59'u (%73.8) *E. coli* ve 22'si (%100) *K. pneumoniae* izolatlarından oluşmaktaydı. *Qnr* genleri 15 izolatta (%14.7) tespit edilmiş, *qnrB4* oranı %10.8 ve *qnrS1* oranı ise %3.9 olarak saptanmıştır. Çalışmada kinolon direncinden sorumlu diğer genlerden *aac (6')-Ib-cr*, *qepA* ve *oqxAB* ise sırasıyla %77.5, %3.9 ve %10.8 olarak tespit edilmiştir (236).

Enterobacteriaceae türleri arasında plazmid aracılı kinolon direncinin prevalansını ve bunun genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve AmpC beta-laktamaz ile olan ilişkisini araştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada iki hastaneden toplam 347 *Enterobacteriaceae* izolatı toplanmış, izolatların 47'sinde *qnr* direnç genleri tespit edilmiştir. Toplam 47 *qnr*-pozitif suşun çoğunluğunu *Klebsiella pneumoniae* (n= 29) ve *Escherichia coli* (n= 6) cinsi bakteriler oluşturmuştur. Direnç genlerinden *qnrA1* 6 izolatta, *qnrB* 40 izolatta ve *qnrS1* ise 1 izolatta saptanmıştır. Kırk yedi *qnr* pozitif suşun 38'inde en az 1 ESBL pozitifliği tespit edilmiştir. Ayrıca *qnr* pozitif suşların *TEM*, *SHV*, *CTX-M* ve *DHA* gibi yüksek ESBL veya Amp C beta-laktamaz oranlarına sahip oldukları da saptanmıştır. Çalışmada öncelikle *qnrB* subtipleri olmak üzere *qnr* genleri *Enterobacteriaceae* türleri arasında oldukça yaygın olarak bulunmuş ve bunların ESBL ve Amp C beta-laktamaz ile yakından ilişkili oldukları belirlenmiştir (237). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak kinolon direnç geni varlığı tespit edilen kökenlerde ESBL ve beta laktamaz üretiminin yakından ilişkili olduğu direnç oranlarından anlaşılmaktadır.

Klebsiella pneumoniae, toplum kökenli ve hastane kaynaklı enfeksiyonların yaygın bir nedenidir. Pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu, karaciğer absesi, septisemi, menenjit ve pürülan apse gibi geniş bir enfeksiyon yelpazesine neden olmaktadır. *MagA* geni *K. pneumoniae*'nin önemli virülans faktörlerindedir. Plazmid aracılı *rmpA* geni uzun yıllar önce tanımlanmış olmasına rağmen *K. pneumoniae* ile ilişkili klinik sendromlar ile arasındaki ilişki netleştirilmemiştir (238).

Bakteriyemili 151 hastadan toplam 151 *K.pneumoniae* izolatı toplanmış ve bu suşlarda *rmpA* ve *magA* genlerinin varlığı araştırılmıştır. Çalışmada hipermukoviskozite, *rmpA* ve *magA* prevalansları sırasıyla %38, %48 ve %17 olarak tespit edilmiştir. *RmpA* taşıyan suşların hipermukoviskozite fenotipiyle anlamlı şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur (180). Çalışmamızda ise *K. pneumoniae* izolatlarının %5.8 (4/68), *K. oxytoca* izolatlarının %4.5 (1/22), *E. coli* izolatlarının ise %8.1'inde (6/74) *rmpA* virülans geni tespit edilmiştir. *MagA* virülans geni ise sadece *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında ve %2.9 (2/68) gibi düşük bir oranda tespit edilmiştir. Bu çalışma ile karşılaştırıldığında *magA* ve *rmpA* virülans gen oranlarımızın daha düşük olduğu görülmektedir.

K. pneumoniae pnömoni, bakteriyemi, idrar yolu enfeksiyonu ve hayatı tehdit eden septik şok dahil olmak üzere çok çeşitli enfeksiyonlara neden olan önemli bir nozokomiyal patojendir. Klinik olarak izole edilmiş *K. pneumoniae* suşları, genellikle bakterilere sadece bir mukoid fenotipini değil, aynı zamanda profesyonel fagositler veya serum bakterisit faktörleri tarafından yakalanmaya karşı direnç sağlayan büyük miktarda kapsüler polisakkarit (cps) üretmektedir. En az 77 K serotipi olmasına rağmen yapılan hayvan çalışmaları K1 ve K2 serotiplerine sahip *K. pneumoniae* suşlarının diğer serotiplerden daha virülan olduğunu göstermiştir (239). Bir çalışma *magA* (mukiskozite ile ilişkili gen) virülans genine sahip patojenik suşların karaciğer absesine neden olduğunu bildirmiştir (240). *MagA* geni bazı *K. pneumoniae* suşlarının artan virülansından sorumlu yeni bir virülans faktörü olarak tanımlanmaktadır (241). Öte yandan *rmpA* geninin K1 serotipinin varlığına kıyasla virülansta daha az önemli olduğu bildirilmiştir (34). Bununla birlikte *K. pneumoniae* suşları virülans faktörlerine göre zayıf bir patojen olarak kabul edilirler, çünkü bazı suşları tam bir virülans genine sahip değildir (239).

Klebsiella pneumoniae hastane ortamlarında, özellikle yoğun bakım ünitelerinde çok ilaca dirençli enfeksiyonlara neden olan en önemli patojenler arasında yer almaktadır. Çok çeşitli vücut bölgelerini kolonize edebilen *K. pneumoniae* geleneksel olarak bakteriyemi, pnömoni, solunum ve idrar yolu enfeksiyonları dahil olmak üzere birçok hastalığa yol açmaktadır. Ancak daha sık toplum kaynaklı, iyi tanımlanmış virülans özellikleri olan ve spesifik tanımlama ve /veya tarama testleri gerektiren suşları ek sendromlara (yani, pirojenik karaciğer apsesi, hemorajik kolit, Lemier sendromları) yol açabilmektedir (242). *Klebsiella* türleri çevrede her yerde bulunabilen mikroorganizmalardır. Toprak, bitki veya su gibi çeşitli çevresel ortamlarda bulunurlar ve birçok biyokimyasal ve jeokimyasal süreci etkilerler. Endüstriyel atık suları, bitkisel ürünler, taze sebzeler, yüksek miktarda şeker ve asit içeren gıdalar, dondurulmuş portakal suyu konsantresi, şeker kamışı atıkları, canlı ağaçlar ile bitki ve su ortamlarından izole edilebilmişlerdir (243).

Bağırsak, su ve toprak örneklerinde *Klebsiella* türlerinin yüksek prevalans nedeni araştırılmış ve bakterilerin oral fekal geçişinin olabileceği bildirilmiştir. *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının hipermukoviskozite özelliği incelenmiş ve kapsüler/slime polisakkaritin aşırı üretimi ve *magA* virülans geninin varlığıyla ilişkilendirilmiştir. Hipermukoviskozite (HMV) fenotipi, serum komplemanlarına ve beyaz kan hücreleri tarafından fagositoza direnç sağlamaktadır (239). *K. pneumoniae*'daki HMV fenotipi ile ilişkili en çok çalışılan iki gen, mukoid fenotip regülatörü olan *rmpA* ve mukoviskozite ile ilişkili gen olan *magA*'dır. *RmpA* geni HMV-pozitif *K. pneumoniae*'de aerobaktin geni ile birlikte saptanmıştır (244). Bu nedenle aerobaktin geninin hipermukoviskozite fenotipiyle ilişkili olduğu düşünülebilir.

K. pneumoniae'nın su ortamından elde edilen izolatları ile hastalardan elde edilen izolatlarının hipermukoviskozite fenotipinden sorumlu *magA* ve *rmpA* gen pozitifliklerinin karşılaştırılması için bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada *magA* geni klinik izolatların %60'ında (6/10) ve su izolatlarının %15'inde (3/20), *rmpA* geni su izolatlarının %75'inde (15/20) ve klinik izolatların %40'ında (4/10) pozitif olarak tespit edilmiştir (245).

Bizim çalışmamızda solunum yolundan elde edilen *K. pneumoniae* izolatlarında *rmpA* virülans geni %21 (4/19), *magA* virülans geni %10.5 (2/19) oranlarında saptanmıştır. Solunum sistemi örneklerinden elde edilen *E. coli* izolatlarında ise *rmpA* genine rastlanmamıştır, ancak idrar örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarında %10 (6/60) oranında saptanmıştır. Solunum yolundan izole edilen *K. oxytoca* suşlarında *rmpA* ve *magA* virülans genlerine rastlanmamıştır, ancak idrar örneklerinden izole edilen *K. oxytoca* suşlarının %5.5'inde (1/18) *rmpA* geni tespit edilmiştir.

WcaG virülans geni *K. pneumoniae* kapsül biyosentezinden sorumlu olan kromozomun transfer edilebilir bölgelerinde bulunur. Bu gen bakterilerin makrofajlar tarafından fagositozundan kurtulma kabiliyetini artırabilen mannozün fukoza dönüştürülmesi için gereklidir (40). İran'ın Tahran kentinde 200 *K. pneumoniae* izolatı üzerinde yapılan bir çalışmada *rmpA* geni izolatların %7'sinde ve *wcaG* geni izolatların %23.5'inde tespit edilmiştir (246). Çalışmamızda ise 68 *K. pneumoniae* izolatının sırasıyla %5.8'inde (4/68) *rmpA*, %2.9'unda (2/68) *wcaG* virülans geni saptanmıştır. İzole ettiğimiz 22 *K. oxytoca* suşunun ise %4.5'inde *rmpA*, %9.1'inde (2/22) *wcaG* virülans geni tespit edilmiştir.

İran'da yapılan bir çalışmada 65 *K. pneumoniae* izolatının tamamı PCR testinde incelenmiştir. *MagA* geninin varlığı 2 (%3,07) izolatta doğrulanmış ve 10 (%15.38) izolatta *rmpA* geni tespit edilmiştir (247). Bizim çalışmada da 68 *K. pneumoniae* izolatının 2'sinde (%2.9; 2/68) *magA*, 4'ünde (%5.8) *rmpA* virülans geni tespit edilmiştir. Bu çalışma ile *magA* geni tespit oranlarımız benzer iken, *rmpA* gen oranımız biraz daha düşük bulunmuştur.

İran'da yapılan başka bir çalışmada 173 *K. pneumoniae* izolatı *rmpA* ve *wcaG* virülans genlerinin varlığı açısından araştırılmış ve *rmpA* geni %20.2, *wcaG* geni %16.2 oranında tespit edilmiştir (248). Bizim çalışmada ise 68 *K. pneumoniae* izolatının %5.8'inde (4/68) *rmpA*, %2.9'unda (2/68) *wcaG* virülans geni saptanmıştır. *K. oxytoca* suşlarının %4.5'inde *rmpA*, %9.1'inde (2/22) *wcaG* virülans geni tespit edilmiştir. Bu çalışma ile bizim çalışma verilerimiz karşılaştırıldığında bizim *rmpA* ve *wcaG* virülans genleri oranımızın biraz daha düşük düzeyde olduğu görülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Bu çalışma idrar ve solunum yolu örneklerinden izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarında kolistin ve diğer antimikrobiyallerin direnç profillerinin araştırıldığı en kapsamlı çalışmalardan biridir.
- Çalışmada bu mikroorganizmaların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlara karşı yüksek direnç oranları tespit edilmiştir.
- *E. coli* kökenlerinin ampisilin (%87.8; 65/74), amoksisilin/klavulonik asit (%71.6; 53/74), sefuroksim aksetil (%71.6; 53/74), siprofloksasin (%66.2; 49/74), trimetoprim/sulfametoksazol (%66.2; 49/74), seftriakson (%62.1; 46/74), seftazidim (%58.1; 43/74) ve sefepim (%54; 40/74) dirençlerinin oldukça yüksek olduğu görülmüştür.
- *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinin tamamının ampisiline dirençli olduğu (%100; 68/68) görülmüştür. Ampisilinden sonra en yüksek direncin sefuroksim/aksetil (%72; 49/68), seftriakson (%67.6; 46/68), seftazidim (%63.2; 43/68) ve sefepime (%60.2; 41/68) karşı olduğu görülmüştür.
- *Klebsiella oxytoca* suşlarında ise *K. pneumoniae*'de olduğu gibi tüm suşlarda (%100; 22/22) ampisiline direnç görülürken, ampisilinden sonra en yüksek direncin sefuroksim aksetil (%72.7; 16/22), trimetoprim/sulfametoksazol (%72.7; 16/22), siprofloksasin (%59; 13/22), seftazidim (%54.5; 12/22) ve seftriaksona (%54.5; 12/22) karşı olduğu görülmüştür.
- Bu veriler Türkiye'de yapılan birçok çalışmayla kıyaslandığında benzer direnç oranlarının elde edildiği tespit edilmiştir.
- Çalışmada *E. coli* kökenlerinde en düşük direnç kolistin (%2.7; 2/74), meropenem (%2.7; 2/74), amikasin (%4; 3/74) ve ertapenem (%6.7; 5/74) karşı görülmüştür.
- *K. pneumoniae* kökenlerinde de *E. coli*'ye benzer şekilde kolistin direncinin (%7.3; 5/68) en düşük düzeyde olduğu, bunu amikasin (%10.2;7/68),

meropenem (%11.7; 8/68) ve ertapenemin (%16.1; 11/68) takip ettiği görülmüştür.

- *K. oxytoca* suşlarında kolistin, amikasin ve meropeneme karşı direnç tespit edilmezken, ertapeneme karşı 1 (% 4.5) suşun dirençli olduğu saptanmıştır.
- Bakteri türleri arasındaki piperasilin tazobaktam direnci karşılaştırıldığında *K. pneumoniae* (%42.6) ve *E. coli* (%29.7) suşlarının benzer direnç oranlarına ($p>0.05$) sahip oldukları ve *K. pneumoniae* (%42.6) suşlarının *K. oxytoca* (%18.2) suşlarına göre anlamlı oranda daha dirençli oldukları saptanmıştır ($p<0.05$). Tigesiklin direnci karşılaştırıldığında ise *E. coli* suşlarının (%5.4), *K. pneumoniae* (%54.4) ve *K. oxytoca* (%36.3) suşlarına göre direnç oranlarının anlamlı derecede daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Ampisilin direnci ise *K. pneumoniae* (%100) ve *K. oxytoca* (%100) suşlarında *E. coli* suşlarına (%87.8) oranla daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Amoksisilin klavulonik asit direnci *E. coli* izolatlarında (%71.6) *K. pneumoniae* izolatlarına (%54.4) oranla daha yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). Meropenem direnci ise *K. pneumoniae* izolatlarında (%11.7) *E. coli* (%2.7) ve *K. oxytoca* (%0) izolatlarına oranla daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Geri kalan antibiyotik direnç oranları ise bakteri türleri arasında benzer olarak tespit edilmiştir ($p>0.05$) (Tablo 7).
- Üriner sistemden izole edilen *E. coli* suşlarında ampisilin direnci (%86.6), *K. pneumoniae* (%100) ve *K. oxytoca* (%100) izolatlarına göre daha düşük saptanmıştır ($p<0.05$). Tigesiklin direnci ise *E. coli* izolatlarında (%6.6) *K. pneumoniae* (%53) ve *K. oxytoca* (%44.4) izolatlarına göre anlamlı oranda daha düşük saptanmıştır ($p<0.05$). İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* izolatlarının çalışılan tüm antibiyotiklere olan dirençleri benzer oranlarda saptanmıştır ($p>0.05$) (Tablo 8).
- Solunum sistemi izolatları incelendiğinde amoksisilin klavulonik asit direnci, *E. coli* izolatlarında (%92.8) *K. pneumoniae* izolatlarına göre (%57.8) daha yüksek olarak saptanmıştır ($p<0.05$). Tigesiklin direnci ise *K. pneumoniae* izolatlarında (%57.8) *E. coli* (%0) ve *K. oxytoca* (%0) izolatlarına göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 9).

- Üriner sistem ve solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyotik dirençleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Benzer şekilde üriner sistem ve solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilen *K. oxytoca* izolatlarının antibiyotik dirençleri arasında da anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Son olarak üriner sistem ve solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik dirençleri arasında da anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 8-9).
- Çalışmamızda kolistine dirençli suşların varlığının belirlenmesi oldukça ciddi bir problem olarak değerlendirilmiştir.
- Kolistin direnci *E. coli* kökenlerinde %2.7 (2/74), *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde %7.3 (5/68) olarak saptanırken, *K. oxytoca* kökenlerinde direnç tespit edilmemiştir.
- Kolistin direncinden sorumlu genlerden biri olan *mcr-1* direnç geni tespit edilmemiştir. Ancak çalışmada *E. coli* kökenlerinin 2'sinde, *Klebsiella* kökenlerinin 5'inde kolistin direnci tespit edilmiştir.
- Kolistin direncinin *mcr-1* geni dışında diğer kolistin direnç genleri (*mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* ve *mcr-5* gibi) ya da mekanizmalara bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.
- Çalışmamızda *E. coli* suşlarının karbapenem grubundan ertapenem ve meropenem karşı direnç oranları sırasıyla %6.7 (5/74) ve %2.7 (2/74), *K. pneumoniae* izolatlarının dirençleri sırasıyla %16.1 (11/68) ve %11.7 (8/68), *K. oxytoca* suşlarının ise sırasıyla %4.5 (1/22) ve %0 olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda *K. pneumoniae* izolatlarının karbapenem grubundan meropenem (%11.7; 8/68) direncinin *E. coli* izolatlarından (%2.7; 2/74) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Karbapenem grubundan ertapenem direnci ise *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarında benzer oranlarda saptanmıştır ($p>0.05$).
- İzolatlarda fenotipik yöntemlerle karbapenem direnci tespit edilirken, karbapenemaz direnç genlerinden biri olan *KPC-2* geni tespit edilmemiştir. Karbapenem direncinin *KPC-2* geninden ziyade başka genlerden (*KPC-3*, *KPC-4*, *KPC-5*, *OXA*, *NDM* gibi) veya mekanizmalardan kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

- Çalışmamızda *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca* kökenlerinin siprofloksasin dirençleri sırasıyla %66.2 (49/74), %52.9 (36/68) ve %59 (13/22) oranlarında tespit edilmiştir. Solunum yolundan elde edilen *K. pneumoniae* izolatlarında kinolon grubundan siprofloksasin direnci %63.1 (12/19) olarak bulunurken, üriner sistem izolatlarında %48.9 (24/49) olarak bulunmuştur. Solunum yolu *E. coli* izolatlarında kinolon grubundan siprofloksasin direnci %78.5 (11/14) olarak tespit edilirken idrar yolu örneklerinde %63.3 (38/60) olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak solunum sistemi ve idrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen bakterilerin siprofloksasin direnç oranları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).
- Kinolon direnci ile ilişkili *qnrA* geni *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* kökenlerinde sırasıyla %5.4 (4/74), %0 ve %9.1 (2/22), *qnrB* geni sırasıyla %17.5 (13/74), %23.5 (16/68), %22.7 (5/22), *qnrS* geni ise sırasıyla %9.4 (7/74), %16.1 (11/68), %22.7 (5/22) oranlarında saptanmıştır. Sonuç olarak *qnrB* ve *qnrS* direnç genleri her üç bakteri türünde de yakın oranlarda saptanmıştır ($p>0.05$). *QnrA* genine *K. pneumoniae* izolatlarında rastlanmazken, *E. coli* ve *K. oxytoca* izolatlarında benzer oranlarda saptanmıştır ($p>0.05$). *Qnr* direnç genleri arasında en yüksek oranda *qnrB* (%20.7; 34/164), en düşük oranda *qnrA* (%3.6; 6/164) geni tespit edilmiştir. Çalışmada *qnrA* geni Türk hastalarda %3.2 (4/122), Suriye uyruklu hastalarda ise %4.7 (2/42), *qnrB* geni Türk hastalarda %18.8 (23/122), Suriye uyruklu hastalarda %26.1 (11/42) ve *qnrS* ise Türk hastalarda %9.8 (12/122) ve Suriye uyruklu hastalarda ise %26.1 (11/42) oranlarında tespit edilmiştir.
- *QnrB* pozitif tespit edilen *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *Klebsiella oxytoca* kökenlerinin sırasıyla %75 (12/16), %76.9 (10/13), %80'i (4/5) idrar örneklerinden, sırasıyla %25 (4/16), %23 (3/13), %20'si (1/5) solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir. Benzer şekilde *qnrS* pozitifliği saptanan *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *Klebsiella oxytoca* kökenlerinin sırasıyla % 81.8 (9/11), %85.7 (6/7), %80'i (4/5) idrar örneklerinden, sırasıyla %18.1 (2/11), %14.2 (1/7), %20'si (1/5) solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir. Görüldüğü üzere *qnrB* ve *qnrS* gen pozitifliği saptanan izolatlar solunum

örneklerine kıyasla idrar örneklerinde daha çok saptanmıştır. Başka açıdan bakacak olursak, toplam 127 idrar ve 37 solunum örneği dikkate alındığında *qnrB* oranı idrar ve solunum örneklerinde sırasıyla %20.4 (26/127) ve %21.6 (8/37), *qnrS* geni de idrar ve solunum örneklerinde sırasıyla %14.9 (19/127) ve %10.8 (4/37) olarak benzer oranlarda bulunmuştur ($p>0.05$).

- Kinolon direncinden daha düşük oranlarda *qnr* direnç geni tespit edilmiştir. Bunun sebebinin çalışmada seçilen genler dışındaki bazı genlerden (*aac(6')*-*Ib-cr*, *qepA* ve *oqxAB* gibi) veya mekanizmalardan kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Ancak *qnr* pozitifliği olan izolatların yüksek oranlarda kinolon direnci gösterdiği saptanmıştır.
- Türk ve Suriye uyruklu hastaların antibiyotik dirençleri incelendiğinde Suriye uyruklu hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* suşlarının siprofloksasin direnci (%80), Türk hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının siprofloksasin direncine (%45.2) göre anlamlı oranda yüksek bulunurken ($p<0.05$), *K. pneumoniae* izolatlarının diğer antibiyotiklere olan direnç oranları Türk ve Suriye uyruklu hasta izolatlarında benzer oranlarda saptanmıştır ($p>0.05$). Suriye uyruklu hastalardan izole edilen *E. coli* izolatlarında piperasilin tazobaktam ve seftazidim dirençleri Türk hastalardan izole edilen *E. coli* izolatlarına göre daha yüksek oranlarda saptanırken ($p<0.05$), *E. coli* izolatlarının diğer antibiyotiklere olan direnç oranları Türk ve Suriye uyruklu hasta izolatlarında benzer oranlarda saptanmıştır ($p>0.05$). Türk ve Suriye uyruklu hastalardan izole edilen *K. oxytoca* suşlarının antibiyotik direnç oranları karşılaştırıldığında direnç oranlarının Türk ve Suriye uyruklu hasta izolatları arasında benzer oranlarda olduğu saptanmıştır ($p>0.05$).
- Çalışmada *rmpA*, *wcaG* virülans genleri *E. coli* izolatlarında sırasıyla %8.1 (6/74), %4 (3/74) oranlarında tespit edilirken, *K. pneumoniae* izolatlarında sırasıyla %5.8 (4/68), %2.9 (2/68) ve *K. oxytoca* izolatlarında sırasıyla %4.5 (1/22) ve %9.1 (2/22) oranlarında tespit edilmiştir.
- İzole edilen bakterilerde *rmpA* ve *wcaG* virülans genleri Suriye ve Türk hasta izolatlarında birbirlerine yakın oranlarda tespit edilmiştir ($p>0.05$). *RmpA* geni Türk hastaların %7.3'ünde (9/122), Suriye uyruklu hastaların %4.7'sinde

(2/42) tespit edilmiştir. *WcaG* virülans geni ise Türk hastaların %4.1'inde (5/122), Suriye uyruklu hastaların %4.7'sinde (2/42) tespit edilmiştir.

- *K. pneumoniae* izolatlarının %2.9'unda (2/68) ve tüm izolatların ise %1.2'sinde (2/164) *magA* virülans genine rastlanmıştır. *K. oxytoca* ve *E. coli* izolatlarında bu virülans genine rastlanmamıştır. Pozitif izolatların 2'si de Türk hastaların solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir. Bu 2 izolatta aynı zamanda *rmpA* ve *wcaG* virülans genleri de pozitif saptanmıştır.
- Tüm izolatlar dikkate alındığında %53 (87/164) oranında ESBL pozitifliği tespit edilmiştir. ESBL pozitif izolatlarda yüksek antibiyotik direnç oranlarına rastlanmıştır. Tür bazında bakıldığında *E. coli* izolatlarının %51.3'ü (38/74), *K. pneumoniae* izolatlarının %51.4'ü (35/68), *K. oxytoca* suşlarının ise %63.6'sı (14/22) ESBL pozitif bulunmuştur. Numune tipine göre değerlendirildiğinde ise idrar örneklerinin %55.1'i (70/127), solunum örneklerinin %45.9'u (17/37) ESBL pozitif bulunmuştur. Uyruk kökenine göre bakıldığında Türk hastaların %53.2'si (65/122), Suriye uyruklu hastaların %52.3'ü (22/42) ESBL pozitif olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak ESBL pozitiflik oranları *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E.coli* bakteri türleri arasında, idrar ve solunum yolu örnekleri arasında ya da Türk-Suriye uyruklu hasta izolatları arasında ayrı gruplar şeklinde incelendiğinde anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).
- *QnrB* pozitif *K. pneumoniae* izolatlarının %93.7'si (15/16) ve *qnrB* pozitif *K. oxytoca* izolatlarının %80'i (4/5) aynı zamanda ESBL pozitif saptanmıştır. *QnrS* pozitif *K. pneumoniae* izolatlarının %72.7'sinin (8/11), *qnrS* pozitif *K. oxytoca* izolatlarının %80'inin (4/5) aynı zamanda ESBL pozitif olduğu görülmüştür. *QnrB* ve *qnrS* kinolon direnç genlerine sahip *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* izolatlarının yüksek oranlarda ESBL üreticisi olmaları bu izolatlarda *qnrB* ve *qnrS* genleri ile ESBL üretiminin ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Bölgesel direnç profillerinin bilinmesi tedavi rejimlerine yön vermesi açısından son derece büyük öneme sahiptir. Fenotipik ve genotipik olarak dirençli

suşların erken belirlenmesi ve gerektiği yerde uygun tedavi rejimlerinin belirlenmesi özellikle immunsuprese hastaların mortalite, immunkompetan hastaların ise morbidite oranlarını önemli ölçüde azaltacak, dirençli suşların yayılmasını önleyecek ve hastane giderlerinin azalmasına katkıda bulunacaktır.

Enterobacteriaceae kökenli enfeksiyonların tedavisinde uygun antibiyotik seçiminde ilaç duyarlılık test sonuçları dikkate alınmalı, akılcı antibiyotik kullanımına dikkat edilmelidir. Özellikle ampirik tedaviler verilirken bölgesel antibiyotik direnç paternleri dikkate alınmalıdır. Bunun yanında dirençli suşların yayılımını önlemek için dirençli mikroorganizma ile enfekte hastaların izolasyonu ve kros kontaminasyonu kırarak önlemlerin alınması ve bu kurallara riayet edilmesi son derece önemlidir.

7. KAYNAKLAR

1. Motamedifar M, Sedigh Ebrahim-Saraie H, Mansury D, Nikokar I, Hashemizadeh Z. Prevalence of Etiological Agents and Antimicrobial Resistance Patterns of Bacterial Meningitis in Nemazee Hospital, Shiraz, Iran. *Arch Clin Infect Dis*. 2015;10(2): e22703.
2. Baris`ic´ Z, Babic´-Erceg A, Borzic´ El, et al. Urinary tract infections in South Croatia:aetiology and antimicrobial. *Intl J Antimicrob Agents*. 2003;22: S61-S64.
3. Kazemian H, Heidari H, Ghanavati R, Mohebi R, Ghafourian S, Shavalipour A, et al. Characterization of Antimicrobial Resistance Pattern and Molecular Analysis among Extended Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*. *Pharm Sci*. 2016;22(4):279 84.
4. Seifi K, Kazemian H, Heidari H, Rezagholizadeh F, Saei Y, Shirvani F, et al. Evaluation of Biofilm Formation Among *Klebsiella pneumoniae* Isolates and Molecular Characterization by ERIC-PCR. *Jundishapur J Microbiol*. 2016;9(1):e30682.
5. Podschun R and Ullmann U, *Klebsiella* spp. As nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 1998; 11(4): p. 589-603.
6. Hoxha A, et al. Attributable mortality of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections in a prospective matched cohort study in Italy, 2012-2013. *J Hosp Infect*. 2016; 92(1): p. 61-6.
7. Kang CI, Kim SH, Bang JW , Kim HB, Kim NJ, Kim EC, et al. Community-acquired versus nosocomial *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: clinical features, treatment outcomes, and clinical implication of antimicrobial resistance. *J Korean Med Sci*. 2006;21:816-822.
8. Lederman ER and Crum NF, Pyogenic liver abscess with a focus on *Klebsiella pneumoniae* as a primary pathogen: an emerging disease with unique clinical characteristics. *Am J Gastroenterol*. 2005;100(2): p. 322-31.
9. Chung DR, Lee SS, Lee HR, Kim HB, Choi HJ, Eom JS, et al. Emerging invasive liver abscess caused by K1 serotype *Klebsiella pneumoniae* in Korea. *J Infect*. 2007;54:578-583.

10. Munoz-Price LS, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(9): p. 785-96.
11. Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. *Int J Antimicrob Agents.* 2010; 36(Suppl 3):S8--14.
12. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid Detection of Carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* 2012;18:1503-7.
13. Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. *J Antimicrob Chemother.* 2010; 1119-25.
14. Leavitt A, Chmelnitsky I, Colodner R, Ofek I, Carmeli Y, Navon-Venezia S. Ertapenem resistance among extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates. *J Clin Microbiol.* 2009 Apr;47(4):969-74.
15. Jadhav S, Misra R, Gandham N, Ujagare M, Ghosh P, Angadi K, et al. Increasing incidence of multidrug resistance *Klebsiella pneumoniae* infections in hospital and community settings. *Int J Microbiol.* 2012;4 (6):253-57.
16. Rastegar Lari A, Azimi L, Rahbar M, Fallah F, Alaghebandan R. Phenotypic detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase among burns patients: First report from Iran. *Burns.* 2013;174 -76.
17. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006-09). *J Antimicrob Chemother.* 2011 Sep;66(9):2070-4.
18. Chen S, et al. Independent emergence of colistin resistant *Enterobacteriaceae* clinical isolates without colistin treatment. *J Clin Microbiol.* 2011;49:4022-4023.
19. Qureshi ZA, et al. Treatment outcome of bacteremia due to KPC producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:2108-2113
20. Kallel H, et al. Safety and efficacy of colistin compared with imipenem in the treatment of ventilator-associated pneumonia: a matched case-control study. *Intensive Care Med.* 2007;33:1162-1167.

21. World Health Organisation. Critically important antimicrobials for human medicine, 3rd edn. Geneva: WHO; 2011. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77376/1/9789241504485_eng.pdf?ua=18&ua=1. Accessed 28 Nov 2016.
22. Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol*. 2014;5(643):1--18.
23. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(2):161--8.
24. Newton-Foot et al. Plasmid-mediated mcr-1 colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* clinical isolates from the Western Cape region of South Africa. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2017;6:78.
25. Hasman H, et al. Detection of mcr-1 encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human blood stream infection and imported chicken meat, Denmark 2015. *Euro Surveill*. 2015;20:49.
26. Skov RL and Monnet DL. Plasmid-mediated colistin resistance (mcr-1 gene): three months later, the story unfolds. *Euro Surveill*. 2016;21(9).
27. Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, Robicsek A. Plasmid mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22: 664-689.
28. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2003;67:593-656.
29. Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*. 1998;351: 797-799.
30. Jacoby GA, Walsh KE, Mills DM, Walker VJ, Oh H, et al. QnrB, another plasmid mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50: 1178-1182.
31. Teo JW, Ng KY, Lin RT. Detection and genetic characterisation of qnrB in hospital isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Singapore. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33: 177-180.

32. Saiful Anuar AS, Mohd Yusof MY, Tay ST. Prevalence of plasmid mediated qnr determinants and gyrase alteration in *Klebsiella pneumoniae* isolated from a university teaching hospital in Malaysia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013;17: 1744-1747.
33. Siu LK, Yeh KM, Lin JC, Fung CP, Chang FY. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: a new invasive syndrome. *Lancet Infect Dis.* 2012;12(11):881-887.
34. Rozalski A. Potential virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* bacilli. *Microbiol Mol Biol.* 2007;61:65-89.
35. Yeh KM, Chang FY, Fung CP, Lin JC, Siu L. MagA is not a specific virulence gene for *Klebsiella pneumoniae* strains causing liver abscess but is part of the capsular polysaccharide gene cluster of *K. pneumoniae* serotype K1. *J Med Microbiol.* 2006;55(6):803-804.
36. Li B, Zhao Y, Liu C, Chen Z, Zhou D. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiol.* 2014;9(9):1071-1081.
37. Hsu CR, Lin TL, Chen YC, Chou HC, Wang JT. The role of *Klebsiella pneumoniae* rmpA in capsular polysaccharide synthesis and virulence revisited. *Microbiology.* 2011;157(Pt12):3446-57.
38. Lin WH, Wang MC, Tseng CC, et al. Clinical and microbiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae* isolates causing community-acquired urinary tract infections. *Infection.* 2010;38(6):459-64.
39. Vila A, Cassata A, Pagella H, et al. Appearance of *Klebsiella pneumoniae* liver abscess syndrome in Argentina: case report and review of molecular mechanisms of pathogenesis. *Open Microbiol J.* 2011;5:107-113.
40. Shu HY, Fung CP, Liu YM, et al. Genetic diversity of capsular polysaccharide biosynthesis in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *Microbiology.* 2009;155(12):4170-4183.
41. Feng P, Weagant S, Grant M, Burkhardt W. Bacteriological analytical Manual: enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform bacteria. *Bacteriol Anal. Man.* 2002;(6),1-13.
42. Yoo SH, Jeong H, Kwon SK, Kim JF. Genomics, Biological Features, and Biotechnological Applications of *Escherichia coli* B: Is B for better; Springer: Berlin, Germany. 2009.

43. Pupo GM, Karaolis DK, Lan R and Reeves PR. Evolutionary relationships among pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* strains inferred from multilocus enzyme electrophoresis and *mdh* sequence studies. *Infect Immun.* 1997;65:2685–2692.
44. Johnson A.T. Evolution of pathogenic *Escherichia coli*. In: M. S. Donnenberg (Ed.) *Escherichia coli* Virulence Mechanisms of a Versatile Pathogen. Academic Press. New York. 2002;55–77.
45. Bermudez, M., and T. C. Hazen. Phenotypic and genotypic comparison of *Escherichia coli* from pristine tropical waters. *Appl Environ Microbiol.* 1988;54:979–983.
46. Bann. Adhesive pili of the chaperone-usher family. In: M. S. Donnenberg (Ed.) *Escherichia coli* Virulence Mechanisms of a Versatile Pathogen. New York: Academic Press. 2002;289–306.
47. Roesch PL, Redford P, Batchelet S, Moritz RL, Pellett S, Haugen BJ, Blattner FR, and Welch RA. Uropathogenic *Escherichia coli* use d-serine deaminase to modulate infection of the murine urinary tract. *Molec Microbiol.* 2003;49:55–67.
48. Waterman SR and Small PL. Characterization of the acid resistance phenotype and *rpoS* alleles of shigalike toxin-producing *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 1996; 64:2808–2811.
49. Braun V and Braun M. Iron transport and signaling in *Escherichia coli*. *FEBS Lett.* 2002;529:78–85.
50. Torres AG, Redford P, Welch RA and Payne SM. TonB-dependent systems of uropathogenic *Escherichia coli*: Aerobactin and heme transport and TonB are required for virulence in the mouse. *Infect Immun.* 2001;69:6179–6185.
51. Lyhs U, Ikonen I, Pohjanvirta T, Raninen K, Mäkela PP, Pelkonen S. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in Poultry Meat Products on the Finnish Retail Market. *Acta Veterinaria Scandinavica.* 2012;54:64.
52. Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*. *Foodborne Pathogenic Diseases.* 2007;4:134-163.

53. Erjavec MS, Zgur-Bertok D. Extended Characterization of Human Uropathogenic *Escherichia coli* Isolates from Slovenia. 2011 September 6. DOI: 10.5772/24699.
54. Rittig MG, Kaufmann A, Robins A, Shaw B, Sprenger H, Gemsa D, Foulongne F, Rouot B, Dornand J. Smooth and Rough Lipopolysaccharide Phenotypes of *Brucella* Induce Different Intracellular Trafficking and Cytokine/Chemokine Release in Human monocytes. *Journal of Leukocyte Biology*. 2004;5 (4): 196–200.
55. Evans DJ. Jr, Evans DG. *Escherichia Coli* in Diarrheal Disease. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.
56. Dean P, Young L, Quitard S, Kenny B. Insights into the Pathogenesis of Enteropathogenic *E. coli* Using an Improved Intestinal Enterocyte Model. *PLoS ONE*. 2013;8(1): e55284.
57. Kaper JB, Nataro JP, Harry LT. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*. 2: 123-140.
58. Tailor CS, Nouri A, Lee CG, Kozak C and Kabat D. Cloning and characterization of a cell surface receptor for xenotropic and polytropic murine leukemia viruses. *Proc Natl Acad Sci*. 1999;96:927–932.
59. World Health Organization. 1999. The World Health Report 1999: Making a Difference. World Health Organization.
60. Sixma TK, Kal KH, van Zanten BA, Dauter Z, Kingma J, Witholt B and Hol WG. Refined structure of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin, a close relative of cholera toxin. *J Molec Biol*. 1993;230:890–918
61. Croxen MA, Finlay BB. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*. 2010;8: 26-38.
62. Nataro JP, Deng Y, Cookson S, Cravioto A, Savarino SJ, Guers LD, Levine MM and Tacket CO. Heterogeneity of enteroaggregative *Escherichia coli* virulence demonstrated in volunteers. *J Infect Dis*. 1995;171:465–468.
63. Wei J, Goldberg MB, Burland V, Venkatesan MM, Deng W, Fournier G, Mayhew GF, Plunkett III G, Rose DJ, Darling A, Mau B, Perna NT, Payne SM, Runyen-Janecky LJ, Zhou S, Schwartz DC, Blattner FR. Complete Genome Sequence and Comparative Genomics of *Shigella flexneri* Serotype 2a Strain 2457T. *Infection and Immunity*. 2003;71: 2775–2786.

64. Goldberg MB and Theriot JA. *Shigella flexneri* surface protein IcsA is sufficient to direct actin-based motility. Proc Natl Acad Sci. 1995;92:6572–6576.
65. Casalino M, Latella MC, Prosseda G and Colonna B. CadC is the preferential target of a convergent evolution driving enteroinvasive *Escherichia coli* toward a lysine decarboxylase-defective phenotype. Infect Immun. 2003;71:5472–5479.
66. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clinical Microbiology Reviews. 1998;11(1): 142–201.
67. Abdallah KS, Cao Y, Wei DJ. Epidemiologic Investigation of Extra-intestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) based on PCR phylogenetic group and fimH single nucleotide polymorphisms (SNPs) in China. International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics. 2011;2(4): 339–353.
68. Chen SL, Wu M, Henderson JP, Hooton TM, Hibbing ME, Hultgren SJ, Gordon JI. Genomic Diversity and Fitness of *E. coli* Strains Recovered from the Intestinal and Urinary Tracts of Women with Recurrent Urinary Tract Infection. Science Translational Medicine. 2013;5 (184): p. 184ra60.
69. Mulvey MA, Lopez-Boado YS, Wilson CL, Roth R, Parks WC, Heuser J and Hultgren SJ. Induction and evasion of host defenses by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. Science. 1998; 282:1494–1497.
70. Johnson JR, Russo TA. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: "the other bad *E. coli*". J Lab Clin Med. 2002;139:155–162.
71. Kunin CM. Urinary tract infections in females. Clin Infect Dis. 1994;18:1–10.
72. Haley RW, Culver DH, White JW, Morgan WM, Emori TG, Munn VP and Hooton TM. The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US hospitals. Am J Epidemiol. 1985;121:182–205.
73. Manges AR, Johnson JR, Foxman B, O'Bryan TT, Fullerton KE and Riley LW. Wide spread distribution of urinary tract infections caused by a multi drug resistant *Escherichia coli* clonal group. N Engl J Med. 2001;345:1007–1013.
74. Wold AE, Caugant DA, Lidin-Janson G, Man de P and Svanborg C. Resident colonic *Escherichia coli* strains frequently display uropathogenic characteristics. J Infect Dis. 1992;165:46–52.

75. Donnenberg MS and Welch RA. Virulence determinants of uropathogenic *E. coli*. In: H. L. A. J. W. W. Mobley (Eds.) *Urinary Tract Infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management*. ASM Press. Washington, DC. 1996;135–174.
76. Sarff LD, McCracken GH, Schiffer MS, Glode MP, Robbins JB, Orskov I and Orskov F. Epidemiology of *Escherichia coli* K1 in healthy and diseased newborns. *Lancet*. 1975;1:1099–1104.
77. Hoffman JA, Wass C, Stins MF and Kim KS. The capsule supports survival but not traversal of *Escherichia coli* K1 across the blood-brain barrier. *Infect Immun*. 1999; 67:3566–3570.
78. Khan NA, Wang Y, Kim KJ, Chung JW, Wass CA and Kim KS. Cytotoxic necrotizing factor-1 contributes to *Escherichia coli* K1 invasion of the central nervous system. *J Biol Chem*. 2002;277:15607–15612.
79. Szmolka A, Nagy B. Multidrug resistant commensal *Escherichia coli* in animals and its impact for public health. *Front Microbiol*. 2013;4:258.
80. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control. *EFSA J*. 2012;10:2598.
81. Lopez Cerero L, Bellido MD, Serrano L, Liro J, Cisneros JM, Rodriguez Bano J, Pascual A. *Escherichia coli* O25b:H4/ST131 are prevalent in Spain and are often not associated with ESBL or quinolone resistance. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013; 31:385-388.
82. Ewers C, Bethe A, Semmler T, Guenther S, Wieler LH. Extended-spectrum beta-lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: A global perspective. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18,:646–655.
83. Canton R, Akova M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Miriagou V, Naas T, Rossolini GM, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:413–431.
84. Walsh F, Rogers TR. Comparison of plasmid-mediated quinolone resistance and extended-spectrum beta-lactamases in third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* from four Irish hospitals. *J Med Microbiol*. 2012;61:142–147.

85. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial Resistance Surveillance in Europe 2011; Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network: Stockholm, Sweden, 2012.
86. Korzeniewska E, Korzeniewska A, Harnisz M. Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2013;91:96–102.
87. Balode A, Punda Polic V, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility of gram-negative and gram-positive bacteria collected from countries in eastern Europe: Results from the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.) 2004–2010. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;41:527–535.
88. Coban AY, Nohut OK, Tanriverdi Cayci Y, Bayramoglu G, Pirincciler M, Cetinkaya E, Cekic Cihan C, Bozdogan B, Durupinar B. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Enterobacteriaceae*: A multicenter study. *Mikrobiyol Bul.* 2012;46:366–374.
89. Cengiz M, Buyukcangaz E, Arslan E, Mat B, Sahinturk P, Sonal S, Gocmen H, Sen A. Molecular characterisation of quinolone resistance in *Escherichia coli* from animals in Turkey. *Vet Rec.* 2012;171:151–154.
90. Bilinski P, Kapka Skrzypczak L, Posobkiewicz M, Bondaryk M, Holownia P, Wojtyla A. Public health hazards in Poland posed by foodstuffs contaminated with *E. coli* O104:H4 bacterium from the recent European outbreak. *Ann Agric Environ Med.* 2012;19:3–10.
91. Karch H, Denamur E, Dobrindt U, Finlay BB, Hengge R, Johannes L, Ron EZ, Tonjum T, Sansonetti PJ, Vicente M. The enemy within us: Lessons from the 2011 European *Escherichia coli* O104:H4 outbreak. *EMBO Mol Med* 2012;4:841–848.
92. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2012; Reporting on 2010 Surveillance Data and 2011 Epidemic Intelligence Data: Stockholm, Sweden, 2013.
93. Markovska R, Schneider I, Ivanova D, Keuleyan E, Stoeva T, Sredkova M, Markova B, Bojkova K, Gergova R, Bauernfeind A, et al. High prevalence of CTX-M-15-producing O25b-ST131 *Escherichia coli* clone in Bulgarian hospitals. *Microb Drug Resist.* 2012;18:390–395.
94. Seib KL, Zhao X, Rappuoli R. Developing vaccines in the era of genomics: A decade of reverse vaccinology. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012;18:109–116

95. Mielke M. Prevention and control of nosocomial infections and resistance to antibiotics in Europe-Primum non-nocere: Elements of successful prevention and control of healthcare-associated infections. *Int. J. Med. Microbiol.* 2010; 300:346–350.
96. Preidis GA, Hill C, Guerrant RL, Ramakrishna BS, Tannock GW, Versalovic J. Probiotics, enteric and diarrheal diseases, and global health. *Gastroenterology.* 2011; 140:8–14.
97. Mennigen R, Bruewer M. Effect of probiotics on intestinal barrier function. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1165:183–189.
98. Amdekar S, Singh V, Singh DD. Probiotic therapy: Immunomodulating approach toward urinary tract infection. *Curr Microbiol.* 2011;63:484–490.
99. Tobias J, Svennerholm AM. Strategies to overexpress enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) colonization factors for the construction of oral whole-cell inactivated ETEC vaccine candidates. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2012;93:2291–2300.
100. Al Abri SS, Beeching NJ, Nye FJ. Traveller's diarrhoea. *Lancet Infect Dis.* 2005;5:349–360.
101. Brumbaugh AR, Mobley HL. Preventing urinary tract infection: Progress toward an effective *Escherichia coli* vaccine. *Expert Rev Vaccines.* 2012;11:663–676.
102. Worthington RJ, Melander C. Combination approaches to combat multidrug-resistant bacteria. *Trends Biotechnol.* 2013;31:177–184.
103. Schroeter J. In: F. Cohn, *Kriptogamen Flora von Schlesien.* 1886;3:131–256.
104. Von Frisch A. Zur aetiologie des rhinoskleroms. *Wien. Med Wschr Jahrg.* 1882;32:969–972.
105. Abel R. Bakteriologische studien über Ozaena simplex. *Zbl Bakteriol Abt.* 1893; 13:161–173.
106. Oelschlaeger TA and Tall BD. Invasion of cultured human epithelial cells by *Klebsiella pneumoniae* isolated from the urinary tract. *Infect Immun.* 1997;65(7):2950–2958.

107. Kalynych S, Morona R, Cygler M. Progress in understanding the assembly process of bacterial O-antigen. *FEMS Microbiol Rev* 38. 2014;1048–1065.
108. Jones GW, Isaacson RE. Proteinaceous bacterial adhesins and their receptors. *Crit Rev Microbiol*. 1983;10:229–260.
109. Ottow JCG. Ecology, physiology, and genetics of fimbriae and pili. *Annu Rev Microbiol*. 1975;29, 79–108.
110. Shon AS, Bajwa RP, Russo TA. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. *Virulence*. 2013;4(2):107–118.
111. Yang FL, Yang YL, Liao PC, et al. Structure and immunological characterization of the capsular polysaccharide of a pyrogenic liver abscess caused by *Klebsiella pneumoniae*: activation of macrophages through Toll-like receptor 4. *J Biol Chem*. 2011;286(24):21041–21051.
112. Lawlor MS, Handley SA, Miller VL. Comparison of the host responses to wild-type and *cpsB* mutant *Klebsiella pneumoniae* infections. *Infect Immun*. 2006;74(9):5402–5407.
113. Campos MA, Vargas MA, Regueiro V, Llompart CM, Alberti S, Bengoechea JA. Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infect Immun*. 2004;72(12):7107–7114.
114. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM. Isolation and characterization of human beta-defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem*. 2001;276(8):5707–5713.
115. Moranta D, Regueiro V, March C et al. *Klebsiella pneumoniae* capsule polysaccharide impedes the expression of beta-defensins by airway epithelial cells. *Infect Immun*. 2010;78(3):1135–1146.
116. Le Chevallier MW, Cawthon CD, Lee RG. Factors promoting survival of bacteria in chlorinated water supplies. *Appl Environ Microbiol*. 1988;54:649–654.
117. Reid G, Charbonneau Smith R, Lam D, Kang YS, Lacerte M, Hayes KC. Bacterial biofilm formation in the urinary bladder of spinal cord injured patients. *Paraplegia*. 1992;30:711–717.

118. Yang D, Zhang Z. Biofilm-forming *Klebsiella pneumoniae* strains have greater likelihood of producing extended-spectrum beta-lactamases. *J Hosp Infect.* 2008;68:369–371.
119. Niveditha S, Pramodhini S, Umadevi S, Kumar S, Stephen S. The isolation and the biofilm formation of uropathogens in the patients with catheter associated urinary tract infections (UTIs). *J Clin Diagn Res.* 2012;6:1478–1482.
120. Singhai M, Malik A, Shahid M, Malik MA, Goyal RA. Study on device-related infections with special reference to biofilm production and antibiotic resistance. *J Glob Infect Dis.* 2012;4:193–198.
121. Schroll C, Barken KB, Krogfelt KA, Struve C. Role of type 1 and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation. *BMC Microbiol.* 2010;10:179.
122. Balestrino D, Ghigo JM, Charbonnel N, Haagensen JA, Forestier C. The characterization of functions involved in the establishment and maturation of *Klebsiella pneumoniae* in vitro biofilm reveals dual roles for surface exopolysaccharides. *Environ Microbiol.* 2008;10:685–701.
123. Huang TW, Lam I, Chang HY, Tsai SF, Palsson BO, Charusanti P. Capsule deletion via a λ -Red knockout system perturbs biofilm formation and fimbriae expression in *Klebsiella pneumoniae* MGH 78578. *BMC Res Notes* . 2014;8:7–13.
124. Anderl JN, Franklin MJ, Stewart PS. Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:1818–1824.
125. Cernohorská L, Votava M. Determination of minimal regrowth concentration (MRC) in clinical isolates of various biofilm-forming bacteria. *Folia Microbiol (Praha).* 2004;49:75–78.
126. Liaqat I, Sumbal F, Sabri AN. Tetracycline and chloramphenicol efficiency against selected biofilm forming bacteria. *Curr Microbiol.* 2009;59:212–220.
127. Singla S, Harjai K, Chhibber S. Susceptibility of different phases of biofilm of *Klebsiella pneumoniae* to three different antibiotics. *J Antibiot.* 2013;66:61–66.

- 128.Naparstek L, Carmeli Y, Navon Venezia S, Banin E. Biofilm formation and susceptibility to gentamicin and colistin of extremely drug resistant KPC producing *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother. 2014;69:1027–1034.
- 129.Chen P, Seth AK, Abercrombie JJ, Mustoe TA, Leung KP. Activity of imipenem against *Klebsiella pneumoniae* biofilms in vitro and in vivo. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58:1208–1213.
- 130.Brisse S, Himbergen van T, Kusters K and Verhoef J. Development of a rapid identification method for *Klebsiella pneumoniae* phylogenetic groups and analysis of 420 clinical isolates. Clin Microbiol Infect. 2004b;10(10):942–945.
- 131.Stock I and Wiedemann B. Natural antibiotic susceptibility of *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. planticola*, *K. ornithinolytica* and *K. terrigena* strains. J Med Microbiol. 2001;50(5):396–406.
- 132.Westbrook GL, Hara CMO, Roman SB and Miller JM. Incidence and identification of *Klebsiella planticola* in clinical isolates with emphasis on newborns. J Clin Microbiol. 2000;38(4):1495–1497.
- 133.Kanki M, Yoda T, Tsukamoto T and Shibata T. *Klebsiella pneumoniae* produces no histamine: *Raoultella planticola* and *Raoultella ornithinolytica* strains are histamine producers. Appl Environ Microbiol. 2002;68(7):3462–3466.
- 134.Hart CA and Rao SK. Rhinoscleroma. J Med Microbiol. 2000;49(5):395–396.
- 135.Carter JS, Bowden FJ, Bastian I, Myers GM, Sriprakash KS and Kemp DJ. Phylogenetic evidence for reclassification of *Calymmatobacterium granulomatis* as *Klebsiella granulomatis* comb. nov. Int J Syst Bacteriol. 1999;49:1695–700.
- 136.Nguyen Thi, Yassibanda PLS, Aidara A, Le Bouguenec C and Germani Y. Enteropathogenic *Klebsiella pneumoniae* HIV-infected adults, Africa. Emerg Infect Dis. 2003;9(1):135–137.
- 137.Calin A. Spondyloarthropathies: An overview. In: A. Calin (Ed.) Spondyloarthropathies. Grune and Stratton. Orlando, FL. 1984;1–8.

138. Ogasawara MK, Kono DH and Yu DT. Mimicry of human histocompatibility HLA-B27 antigens by *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun*. 1986;51:901–908.
139. Carpenter JL. *Klebsiella* pulmonary infections: Occurrence at one medical center and review *Rev Infect Dis*. 1990;12(4):672–682.
140. Ørskov I. The genus *Klebsiella* (medical aspects). In: M. P. Starr, H. Stolp, H. G. Trüper, A. Balows, and H. G. Schlegel. *The Prokaryotes*. Springer-Verlag. Berlin, Germany. 1981;1160–1165.
141. Vergis EN, Indorf A, File TM, Phillips Jr J, Bates J, Tan J, Sarosi GA, Grayston JT, Summersgill J and Yu VL. Azithromycin vs cefuroxime plus erythromycin for empirical treatment of community-acquired pneumonia in hospitalized patients: A prospective, randomized, multicenter trial. *Arch Intern Med*. 2000;160(9):1294–300.
142. Laupland KB, Ross T, Pitout JD, Church DL, Gregson DB. Community-onset urinary tract infections: A population-based assessment. *Infection* . 2007;35:150–153.
143. Bennett CJ, Young MN, Darrington H. Differences in urinary tract infection in male and female spinal cord injury patients on intermittent catheterization. *Paraplegia*. 1995;33: 69–72.
144. Siegman Igra Y, Golan H, Schwartz D, Cahaner Y, de-Mayo G, Orni Wasserlauf R. Epidemiology of vascular catheter-related bloodstream infections in a large university hospital in Israel. *Scand J Infect Dis*. 2000;32:411–415.
145. Lin MY, Lyles Banks RD, Lolans K, Hines DW, Spear JB, Petrak R, Trick WE, Weinstein RA, Hayden MK. Centers for Disease Control and Prevention Epicenters Program. The importance of long-term acute care hospitals in the regional epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Infect Dis*. 2013;57:1246–1252.
146. Orsi GB, Scorzolini L, Franchi C, Mondillo V, Rosa G, Venditti M. Hospital-acquired infection surveillance in a neurosurgical intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2006;64:23–29.
147. Giani T, Pini B, Arena F, Conte V, Bracco S, Migliavacca R. AMCLI-CRE Survey Participants; Pantosti A, Pagani L, Luzzaro F, et al. Epidemic

diffusion of KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy: Results of the first countrywide survey, 15 May to 30 June 2011. *Euro Surveill.* 2013;30:18–22.

148. Azzopardi EA, Azzopardi E, Camilleri L, Villapalos J, Boyce DE, Dziewulski P, Dickson WA, Whitaker IS. Gram negative wound infection in hospitalised adult burn patients-systematic review and metanalysis. *PLoS One.* 2014;9, e95042.
149. Ørskov I. Nosocomial infections with *Klebsiella* in lesions of the urinary tract. *Acta Pathol. Microbiol. Scand Suppl.* 1952;92:259–271.
150. Monnet DL, Biddle JW, Edwards JR, Culver DH, Tolson JS, Martone WJ, Tenover FC and Gaynes RP. Evidence of interhospital transmission of extended-spectrum beta-lactam-resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United States, 1986 to 1993: The National Nosocomial Infections Surveillance System. *Infect. Control Hosp Epidemiol.* 1997;18(7):492–498.
151. Davis TJ and Matsen JM. Prevalence and characteristics of *Klebsiella* species: relation to association with a hospital environment. *J Infect Dis.* 1974;130:402–405.
152. Cooke EM, Pool R, Brayson JC, Edmondson AS, Munro ME and Shinebaum R. Further studies on the source of *Klebsiella aerogenes* in hospital patients. *J Hyg Camb.* 1979;83:391-395.
153. Pollack M, Niemann RE, Reinhardt JA, Charache P, Jett MP and Hardy PH. Factors influencing colonisation and antibiotic resistance patterns of gram-negative bacteria in hospital patients. *Lancet.* 1972;668–671.
154. Selden R, Lee S, Wang WL, Bennett JV and Eickhoff TC. Nosocomial *Klebsiella* infections: intestinal colonization as a reservoir. *Ann Intern Med.* 1971;74:657–664.
155. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, Scheld M, Spellberg B, Bartlett J. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2009;48:1–12.
156. Hibbert Rogers LCF, Heritage J, Gascoyne Binzi DM, Hawkey PM, Todd N, Lewis IJ and Bailey C. Molecular epidemiology of ceftazidime resistant

Enterobacteriaceae from patients on a paediatric oncology ward. J Antimicrob Chemother. 1995;36:65–82.

157. Tzouveleki LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae*: An evolving crisis of global dimensions. Clin Microbiol Rev. 2012;25:682–707.
158. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G and Philippon A. Extended broad-spectrum b-lactamases conferring transferable resistance to newer b-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis. 1988;10:867–878.
159. Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L and Jacoby GA. Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum b-lactamases. J Clin Microbiol. 1994;32:691–696.
160. Patel G, Bonomo RA. Status report on carbapenemases: Challenges and prospects. Expert Rev Anti Infect Ther. 2011;9:555–570.
161. Wang Q, Li B, Tsang AK, Yi Y, Woo PC, Liu CH. Genotypic analysis of *Klebsiella pneumoniae* isolates in a Beijing Hospital reveals high genetic diversity and clonal population structure of drug-resistant isolates. PLoS One. 2013;8:e57091.
162. van Duin D, Kaye KS, Neuner EA, Bonomo RA. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: a review of treatment and outcomes. Diagn Microbiol Infect Dis 2013;75:115e20.
163. Swaminathan M, Sharma S, Poliansky Blash S, Patel G, Banach DB, et al. Prevalence and risk factors for acquisition of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in the setting of endemicity. Infect Control Hosp Epidemiol 2013;34:809e17.
164. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! Trends Mol Med 2012; 18:263e72.
165. Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: epidemiology and prevention. Clin Infect Dis. 2011;53:60e7.
166. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. Lancet Infect Dis. 2009;9:228–36.

167. Naas T, Cuzon G, Villegas MV, Lartigue MF, Quinn JP, Nordmann P. Genetic structures at the origin of acquisition of the β -lactamase blaKPC gene. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:1257–63.
168. Goren MG, Navon-Venezia S, Chmelnitsky I, Carmeli Y. Carbapenem-resistant KPC-2-producing *Escherichia coli* in a Tel Aviv medical center, 2005 to 2008. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:2687–91.
169. Naas T, Cuzon G, Gaillot O, Courcol R, Nordmann P. When carbapenem hydrolyzing β -lactamase KPC meets *Escherichia coli* ST131 in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:4933–4.
170. Navon-Venezia S, Chmelnitsky I, Leavitt A, Schwaber MJ, Schwartz D, Carmeli Y. Plasmid-mediated imipenem-hydrolyzing enzyme KPC-2 among multiple carbapenem-resistant *Escherichia coli* clones in Israel. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(9):3098e101.
171. Chen LH, Petersen E. The era of antibiotic-resistant bacteria: Time for political, travel medicine and healthcare decisions. *Travel Med Infect Dis*. 2015 Jul–Aug;13(4):279e80.
172. Biswas S., Brunel JM, Dubus JC, Reynaud-Gaubert M, Rolain JM. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2012;10:917–34.
173. Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30:557–96.
174. Trent MS. Biosynthesis, transport, and modification of lipid A. *Biochem Cell Biol*. 2004;82:71–86.
175. Hooper DC. Mechanisms of quinolone resistance. In: Hooper DC, Rubinstein E, editors. *Quinolone antimicrobial agents*. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press; 2003. p. 41–67.
176. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis*. 2006;6:629–40.
177. Vuotto C, Longo F, Pascolini C, Donelli G, Balice MP, Libori MF, et al. Biofilm formation and antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae* urinary strains. *J Appl Microbiol*. 2017;123(4):1003–18.

- 178.Lin TH, Huang SH, Wu CC, Liu HH, Jinn TR, Chen Y, et al. Inhibition of *Klebsiella pneumoniae* Growth and Capsular Polysaccharide Biosynthesis by Fructus mume. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:621701.
- 179.Yeh KM, Lin JC, Yin FY, Fung CP, Hung HC, Siu LK, et al. Revisiting the importance of virulence determinant magA and its surrounding genes in *Klebsiella pneumoniae* causing pyogenic liver abscesses: exact role in serotype K1 capsule formation. *J Infect Dis.* 2010;201(8):1259–67.
- 180.Yu WL, Ko WC, Cheng KC, et al. Association between rmpA and magA genes and clinical syndromes caused by *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. *Clin Infect Dis.* 2006;42(10):1351-1358.
- 181.Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:440-58.
- 182.Nordmann P, Naus T, Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Disease.* 2011;17:1791-8.
- 183.Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in acute care facilities. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2009;58:256-60.
- 184.Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 2011;35:736-55.
- 185.Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistant to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *Int J Med Microbiol.* 2010; 300: 371–379.
- 186.Rouze A, Cottreau A, Nseir S. Chronic obstructive pulmonary disease and the risk for ventilator-associated pneumonia. *Curr Opin Crit Care.* 2014;20:525–531.
187. De Laveleye M, Huang TD, Bogaerts P, Berhin C, Bauraing C, et al., Increasing incidence of carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Belgian hospitals. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 2017;36:139–146.
- 188.Yamamoto N, Asada R, Kawahara R, Hagiya H, Akeda Y, et al., Prevalence of, and risk factors for, carriage of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae among hospitalized patients in Japan. *J. Hosp. Infect.* 2017;97 (3):212–217.
- 189.Goren MG, Navon-Venezia S, Chmelnitsky I, Carmeli Y. Carbapenem-resistant KPC-2-producing *Escherichia coli* in a Tel Aviv Medical center 2005 to 2008. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:2687e91.

190. Hong T, Smith Moland E, Abdalhamid B, Hanson ND, Wang J, Sloan C, et al. *Escherichia coli*: development of carbapenem resistance during therapy. *Clin Infect Dis*. 2005;40:84e6.
191. Labarca J, Poirel L, Ozdamar M, Turkoglu S, Hakko E, Nordmann P. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, finally targeting Turkey. *New Microbes New Infect*. 2014;2(2):50e1.
192. Poirel L, Yilmaz M, Istanbulu A, Arslan F, Mert A, Bernabeu S, et al. Spread of NDM-1-producing Enterobacteriaceae in a neonatal intensive care unit in Istanbul, Turkey. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(5):2929e33.
193. Poirel L, Hearitier C, Tolun V, Nordman P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:15e22.
194. Kuskucu AM, Karakullukcu A, Ailiken M, et al. Investigation of carbapenem resistance and the first identification of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) enzyme among *Escherichia coli* isolates in Turkey: A prospective study. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2016;14:572-576
195. Wu JJ, Wang LR, Liu YF, Chen HM, Yan JJ. Prevalence and characteristics of ertapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in a Taiwanese university hospital. *Microb Drug Resist*. 2011;17:259e66.
196. Yan JJ, Wu JJ, Lee CC, Ko WC, Yang FC. Prevalence and characteristics of ertapenem-nonsusceptible *Escherichia coli* in a Taiwanese university hospital, 1999 to 2007. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29:1417e25.
197. Tseng SH, Lee CM, Lin TY, Chang SC, Chang FY. Emergence and spread of multi-drug resistant organisms: think globally and act locally. *J Microbiol Immunol Infect*. 2011;44:157e65.
198. Munoz-Price LS, Quinn JP. Deconstructing the infection control bundles for the containment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Curr Opin Infect Dis*. 2013;26:378e87.
199. Lee CM, Liao CH, Lee WS, Liu YC, Mu JJ, Lee MC, et al. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-2- producing *K. pneumoniae* sequence type 11 in Taiwan in 2011. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:5016e22.
200. Chang YY, Chuang CY, Kristopher SL, et al. Clinical features of patients with carbapenem nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in intensive care units: A nationwide multicenter study in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2015;48:219-225.

201. Zhang R, Wang XD, Cai JC, et al. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* with high qnr prevalence in a Chinese hospital. *Journal of Medical Microbiology*. 2011;60:977–982.
202. Temkin E, Adler A, Lerner A, Carmeli Y. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: biology, epidemiology, and management. *Ann NY Acad Sci*. 2014;1323:22–42.
203. Mathers AJ, Peirano G, Pitout JD. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev*. 2015;28:565–91.
204. Pournaras S, Poulou A, Voulgari E, Vrioni G, Kristo I, Tsakris A. Detection of the new metallo-beta-lactamase VIM-19 along with KPC-2, CMY-2 and CTX-M-15 in *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65:1604–7.
205. Aschbacher R, Pagani L, Doumith M, Pike R, Woodford N, Spoladore G, et al. Metallo-beta lactamases among Enterobacteriaceae from routine samples in an Italian tertiary care hospital and long-term care facilities during 2008. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:181–9.
206. Walsh TR, Weeks J, Livermore DM et al. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11: 355–62.
207. Naas T, Bonnin RA, Cuzon G et al. Complete sequence of two KPC-harboring plasmids from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68: 1757–62.
208. Siu LK, Lin JC, Gomez E et al. Virulence and plasmid transferability of KPC *Klebsiella pneumoniae* at the Veterans Affairs Healthcare System of New Jersey. *Microb Drug Resist*. 2012; 18: 380–4.
209. Bratu S, Brooks S, Burney S et al. Detection and spread of *Escherichia coli* possessing the plasmid-borne carbapenemase KPC-2 in Brooklyn, New York. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 972–5.
210. Tumbarello M, Treccarichi EM, De Rosa FG, Giannella M, Giacobbe DR, Bassetti M, Losito AR, Bartoletti M, Del Bono V, Corcione S, Maiuro G, Tedeschi S, Celani L, Cardellino CS, Spanu T, Marchese A, Ambretti S, Cauda R, Viscoli C, Viale P; ISGRI-SITA. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70:2133–2143.
211. Rouzé, A., Martin-Loeches, I., and Nseir, S. (2018). Airway devices in ventilator-associated pneumonia pathogenesis and prevention. *Clin Chest Med*. 39, 775–783.

212. Tuon FF, Graf ME, Merlini A, Rocha JL, Stallbaum S, Arend LN, et al. Risk factors for mortality in patients with ventilator-associated pneumonia caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Braz. J Infect Dis.* 2017; 21, 1–6.
213. Kulengowski B, Ribes JA and Burgess DS. Polymyxin B Etest R compared with gold-standard broth microdilution in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae exhibiting a wide range of polymyxin B MICs. *Clin Microbiol Infect.* 2018;25, 92–95.
214. Cizmeci Z, Aktas E, Otlu B, Acikgoz O and Ordekci S. Molecular characterization of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae yields increasing rates of NDM-1 carbapenemases and colistin resistance in an OXA-48-endemic area. *J Chemother.* 2017;29, 344–350
215. Ah YM, Kim AJ, Lee JY. Colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents.* 2014; 44: 8–15.
216. Xavier BB, Lammens C, Ruhel R, et al. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. *Euro Surveill.* 2016; 21: PII=30280.
217. Halaby T, Al Naiemi N, Kluytmans J, van der Palen J, Vandenbroucke-Grauls CM. Emergence of colistin resistance in Enterobacteriaceae after the introduction of selective digestive tract decontamination in an intensive care unit. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 57: 3224–29.
218. Quan J, Li X, Chen Y, et al. Prevalence of *mcr-1* in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* recovered from bloodstream infections in China: a multicentre longitudinal study. *Lancet Infect Dis.* 2017;17: 400–10.
219. Prim N, Turbau M, Rivera A, et al. Prevalence of colistin resistance in clinical isolates of Enterobacteriaceae: A four-year cross-sectional study. *Journal of Infection.* 2017;75:493–498.
220. Falagas ME, Karageorgopoulos DE, Nordmann P. Therapeutic options for infections with Enterobacteriaceae producing carbapenem-hydrolyzing enzymes. *Fut Microbiol.* 2011; 6 :653–66 .
221. Pogue JM, Lee J, Marchaim D, Yee V, Zhao JJ, Chopra T, et al. Incidence of and risk factors for colistin-associated nephrotoxicity in a large academic health system. *Clin Infect Dis.* 2011; 53 :879–84.
222. Xu Y, Wei W, Lei S, Lin J, Srinivas S, Feng Y. An evolutionarily conserved mechanism for intrinsic and transferable polymyxin resistance. *MBio.* 2018; 9 (2) e02317–17.

223. Bulman ZP , Chen L , Walsh TJ , Satlin MJ , Qian Y , Bulitta JB , et al. Polymyxin combinations combat escherichia coli harboring mcr-1 and bla_{NDM-5}: preparation for a postantibiotic era. *MBio*. 2017; 8 (4) e00540–17 .
224. Baron S , Hadjadj L , Rolain JM , Olaitan AO . Molecular mechanisms of polymyxin resistance: knowns and unknowns. *Int J Antimicrob Agents*. 2016; 48 :583–91 .
225. Trent MS. Biosynthesis, transport, and modification of lipid A. *Biochem Cell Biol*. 2004;82:71–86.
226. Eiamphungporn W, Yainoya S, Jumderma C, et al. Prevalence of the colistin resistance gene mcr-1 in colistin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from humans in Thailand. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2018;15: 32–35.
227. Sari AN, Suzuk S, Karatuna O, et al. Results of a Multicenter Study Investigating Plasmid Mediated Colistin Resistance Genes (mcr-1 and mcr-2) in Clinical Enterobacteriaceae Isolates from Turkey. *Mikrobiyol Bul*. 2017; 51(3): 299-303.
228. Walkty A, Karlowsky AJ , Adam HJ, et al. Frequency of MCR-1-mediated colistin resistance among *Escherichia coli* clinical isolates obtained from patients in Canadian hospitals (CANWARD 2008–2015), *CMAJ Open*. 2016; DOI:10.9778/cmajo.20160080.
229. Perez F, El Chakhtoura NG, Papp-Wallace K, Wilson BM, Bonomo RA. Treatment options for infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Can we apply “precision medicine” to antimicrobial chemotherapy? *Expert. Opin. Pharmacother*. 2016;17:761–781.
230. Chen CW, Tang HJ , Chenh CC, et al. The Microbiological Characteristics of Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae Carrying the mcr-1 Gene. *J Clin Med*. 2019; 8: 261.
231. Kocak CO, Hazırolan G. Colistin Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates. *Türk Mikrobiyoloji Cem Derg*. 2019;49(1):17-23.
232. Wise MG, Estabrook MA, Sahn DF, Stone GG, Kazmierczak KM. Prevalence of mcr-type genes among colistin resistant Enterobacteriaceae collected in 2014-2016 as part of the INFORM global surveillance program. *PLoS ONE*. 2018; 13(4): e0195281.
233. Okade H, Nakagawa S, Sakagami T, et al. Characterization of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from Tokai, Japan. *J Infect Chemother*. 2014;20:778e783

234. Briales A, Rodríguez Martínez JM, Velasco C, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr* and *aac(6)-Ib-cr* in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases in Spain. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2012; 39:431–434.
235. El-Houda Jlili N, Rejiba S, Smaoui H, et al. Trend of plasmid-mediated quinolone resistance genes at the Children's Hospital in Tunisia. *Journal of Medical Microbiology*. 2014;63:195–202.
236. Yang HY, Nam YS, Lee HJ. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance genes among ciprofloxacin-nonsusceptible *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from blood cultures in Korea. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2014 May/June; 25:3.
237. Jeong HS, Bae K, Shin JH, et al. Prevalence of Plasmid-mediated Quinolone Resistance and Its Association with Extended-spectrum β -lactamase and AmpC β -lactamase in Enterobacteriaceae. *Korean J Lab Med*. 2011;31:257-264.
238. Nassif X, Honore N, Cole ST, Sansonetti PJ. Positive control of colonic acid synthesis in *Escherichia coli* by *rmpA* and *rmpB*, two virulence plasmid genes of *Klebsiella pneumoniae*. *Mol Microbiol*. 1989; 3: 1349–59.
239. Fang CT, Chuang YP, Shun CT, Chang SC and Wang JT. A novel virulence gene in *Klebsiella pneumoniae* strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications. *J Exp Med*. 2004;199:697–705.
240. Rahn A, Drummel-Smith J, Whitfield C. Conserved organization in the *cps* gene clusters for expression of *Escherichia coli* group(1) K antigens: relationship to the colanic acid biosynthesis locus and the *cps* genes from *Klebsiella pneumoniae*. *Bacteriol*. 1999;181: 2307–231.
241. Jazani NH, Ghasemnejad- Berenji H and Sadegpoor S. Antibacterial effects of Iranian *Menthapulegium* essential oil on isolates of *Klebsiella* sp. *Pakistan. Journal of Biological Sciences*. 2009;12(2):183-185.
242. Jand JM. The Genus *Klebsiella*: An Ever-Expanding Panorama of Infections, Disease-Associated Syndromes, and Problems for Clinical Microbiologist. *Clin. Microbiol., Case Report*. 2015;1: 2-7.
243. Grimont PAD, Grimont F. Genus *Klebsiella*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed.; Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T., Eds.; Springer: New York, NY, USA. Part B. 2005;2: 685–693.
244. Si Guo, JingJing, YanShuan W, JunHong Xu, Yi Li and Rui Xue. Clinical and molecular characteristics of *Klebsiella pneumoniae* ventilator-associated pneumonia in main land China. *BMC. Infect Dis*. 2016; 16:608.

245. Mohammed ES, Flayyih MT. Detection of rmpA and magA genes and hypermucoviscosity phenotype in *Klebsiella pneumoniae* isolated from water samples in compare with clinical isolates. *Curr Res Microbiol Biotechnol*. 2018;6(1):1424-1430.
246. Derakhshan S, Peerayeh SN, Bakhshi B. Association Between Presence of Virulence Genes and Antibiotic Resistance in Clinical *Klebsiella Pneumoniae* Isolates. *Lab Medicine*. 2016;47;306–311
247. Nahavandinejad M, Asadpour L. Mucoviscosity Determination and Detection of magA and rmpA Genes in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Northern Iran. *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*. 2017 July;4:3.
248. Moghadas AJ, Kalantari F, Sarfi M, et al. Evaluation of Virulence Factors and Antibiotic Resistance Patterns in Clinical Urine Isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Semnan, Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2018; 11(7):e63637.

8. ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Hatay'ın Antakya ilçesinde doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini Hatay'da aldıktan sonra 2008 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazandım. 2009 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi'ne yatay geçiş yaptım. 2014 yılında fakülteden mezun oldum. Hatay Altınöz Toplum Sağlığı Merkezi'nde 3 aylık mecburi hizmetinden sonra Aralık 2014'te Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Bölümü'nde asistanlığa başladım. Yaklaşık 14 ay görev yaptıktan sonra Tıpta Uzmanlık Sınavı yeniden yerleştirmesi ile Mart 2016'da Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü'nde asistanlığa başladım.

Dr. Ali ATEŞ