



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

***Klebsiella pneumoniae* İZOLATLARINDA
MEROPENEM VE SEFTRİAKSON SUB-MİNİMAL
İNHİBİTÖR KONSANTRASYONLARININ BİYOFİLM
OLUŞUMUNA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Shahin SHOJAEI BADR

Danışman
Doç. Dr. Kemal BİLGİN

SAMSUN
2022

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



Klebsiella pneumoniae İZOLATLARINDA
MEROPENEM VE SEFTRİAKSON SUB-MİNİMAL
İNİBİTÖR KONSANTRASYONLARININ BİYOFİLM
OLUŞUMUNA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Shahin SHOJAEI BADR

Danışman

Doç. Dr. Kemal BİLGİN

SAMSUN
2022

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet

Hayır

İmza

... /08 / 2022

Shahin SHOJAEI BADR

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : *Klebsiella pneumoniae* İZOLATLARINDA MEROPENEM VE SEFTRİAKSON SUB-MİNİMAL İNHİBİTÖR KONSANTRASYONLARININ BİYOFİLM OLUŞUMUNA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 24.06.22 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 13

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

İmza

... /08 / 2022

Doç. Dr. Kemal BİLGİN

ÖZET

Klebsiella pneumoniae İZOLATLARINDA MEROPENEM VE SEFTRİAKSON SUB-MİNİMAL İNHİBİTÖR KONSANTRASYONLARININ BİYOFİLM OLUŞUMUNA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Shahin SHOJAEI BADR
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Ağustos/2022
Danışman: Doç. Dr. Kemal BİLGİN

Klebsiella pneumoniae, idrar yolu enfeksiyonları, pnömoni, septisemi ve yara enfeksiyonları ile ilişkili olan fırsatçı bir patojendir. Bu mikroorganizma, kateterler ve endotrakeal tüp gibi kalıcı plastik cihazlarda biyofilm oluşturabilir ve daha sonra insan dokusunu kolonize edebilir. Biyofilmler, hem tıbbi cihaz ve biyomateryaller üzerinde hemde konakçı epitel hücreleri ve mukozal yüzeylerde oluşabilen ve pek çok farklı hastalıkta rol oynayan mikroekosistemlerdir. Mikroorganizmalardaki biyofilm oluşumunun önlenmesi veya oluşmuş biyofilmin ortadan kaldırılması, bu mikroorganizmalara bağlı enfeksiyonların tedavisinde önemli katkı sağlayabilecektir. Çalışmamızda; idrar örneklerinden izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarında meropenem ve seftriakson antibiyotiklerinin sub-minimal konsantrasyonlarının biyofilm oluşumuna etkinliği araştırılmıştır.

Çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında idrar örneklerden izole edilen 205 adet *K. pneumoniae* izolatı dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen *K. pneumoniae* izolatlarının mikrotitrasyon plak yöntemi ile biyofilm oluşturma kapasiteleri araştırılmıştır. Biyofilm oluşturduğu tespit edilen izolatlara mikrodilüsyon yöntemi ile meropenem ve seftriakson antibiyotiklerinin duyarlılıkları çalışılmıştır. Bu izolatlar içinden orta güçte (+2) biyofilm oluşturan beş izolatın Sub-MİK (MİK/2, MİK/4, MİK/8) değerlerinin biyofilm önlenim etkisi mikrotitrasyon plak yöntemi ile test edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 205 izolatın 119 (%58.05)'u biyofilm oluşturmazken, 86 (%41.95)'sının biyofilm oluşturduğu görülmüştür. Biyofilm oluşturan izolatların 56 (%27.32)'sı düşük kuvvette (+1), 30 (%14.63)'u orta kuvvette (+2) biyofilm oluşturmuştur. +2 derecede biyofilm oluşturan 48, 52, 56, 91 ve 118 nolu izolatlardan 56 nolu izolatın meropenemdeki MİK/2 değeri olan 2 µg/ml konsantrasyonunda biyofilm önlenimi görülmüştür. Diğer meropenem ve tüm seftriakson sub-MİK değerlerinde biyofilm önlenimi tespit edilememiştir. Bunun yanında bazı izolatların çeşitli sub-MİK değerlerinde biyofilm üretim gücünde artış görülmüştür.

Bu konunun anlaşılabilmesi için farklı antibiyotiklerin ve mikroorganizmaların dahil edildiği geniş çaplı çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: *K. pneumoniae*, Biyofilm, Meropenem, Seftriakson

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF MEROPENEM AND CEFTRIAXON SUB-MINIMAL INHIBIT OR CONCENTRATIONS ON BIOFILM FORMATION IN *Klebsiella pneumoniae* ISOLATES

Shahin SHOJAEI BADR
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Medical Microbiology
Master, August/2022
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kemal BİLGİN

Klebsiella pneumoniae is an opportunistic pathogen associated with urinary tract infections, pneumonia, septicemia and wound infections. This microorganism can form a biofilm in permanent plastic devices such as catheters and endotracheal tubing and then colonize human tissue. Biofilms are microecosystems that can form on medical devices and biomaterials, as well as on host epithelial cells and mucosal surfaces, and play a role in many different diseases. Prevention of biofilm formation in microorganisms or eliminating of the formed biofilm will make a serious contribution to the treatment of infections due to these microorganisms. In our study; The effectiveness of sub-minimal concentrations of meropenem and ceftriaxone antibiotics on biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* isolates isolated from urine samples will be investigated.

205 *K. pneumoniae* spp were isolated from urine samples in Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine Microbiology laboratory. Biofilm forming capacities of *K. pneumoniae* isolates included in the study were investigated by microtitration plate method. The susceptibilities of meropenem and ceftriaxone antibiotics were studied by microdilution method on isolates found to form biofilms. Among these isolates, the biofilm inhibition effect of the Sub-MIC (MIC/2, MIC/4, MIC/8) values of five isolates with medium strength (+2) biofilm was tested by microtitration plate method.

It was observed that 119 (58.05%) of the 205 isolates included in the study did not form biofilms and 86 (41.95%) of isolates biofilms occurred. From the positive result, 56 (27.32%) formed low-strength (+1) and 30 (14.63%) formed medium-strength (+2) biofilm.

Biofilm inhibition was observed in 2 µg/ml meropenem, which is the MIC/2 value of isolate 56 from isolates 48, 52, 56, 91 and 118, forming biofilm at +2 degrees. Biofilm inhibition was not detected in other meropenem and all ceftriaxone sub-MIC values. In addition, an increase in biofilm production power was observed at various sub-MIC values of some isolates.

In order to understand can this subject, it is thought that it would be useful to conduct large-scale studies with different microorganisms including different antibiotics.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, Biofilm, Meropenem, Ceftriaxone

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini ve ilgisini eksik etmeyen, bana her türlü araştırma olanağı sağlayan, akademik çalışmaların her aşamasında karşılaştığım güçlükleri aşmamda yardımını esirgemeyen, bilgi ve birikimi ile bana yol gösteren değerli tez danışmanım Doç. Dr. Kemal BİLGİN'e minnettarlığımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım boyunca bilgi, ilgi ve yardımseverlikleriyle desteklerini gördüğüm ve her zaman rehberliklerine başvurduğum değerli hocalarım Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ, öğretim üyeleri Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI ve Dr. Öğr. Üyesi Demet GÜR VURAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans süresince bana pek çok konuda destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı asistanları, doktora ve yüksek lisans öğrencileri ve de laboratuvar çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Beni bu günlere getiren, ömrüm boyunca maddi manevi desteklerini esirgemeyen, annem Masomeh TALEBI ve babam Jabbar SHOJAEI BADR'e, ve abim Vahid SHOJAEI BADR'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen değerli arkadaşlarım Arş. Gör. İlknur BIYIK, Uzman Dr. Canberk ÇINAR 'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma PYO.TIP.1904.21.020, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından proje numarası ile desteklenmiştir.

Shahin SHOJAEI BADR

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Enterobacteriaceae Ailesi.....	3
2.2. Enterobacteriaceae Ailesinin Genel Özellikleri ve Morfolojileri	3
2.3. <i>Klebsiella</i> Türler	3
2.3.1. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri.....	3
2.3.2. Taksonomi	4
2.3.3. Epidemiyoloji ve Patogenez	4
2.4. Antimikrobiyal Ajanlar.....	5
2.3.1. Meropenem.....	5
2.3.2. Seftriakson.....	6
2.5. <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin Virulans Faktörleri.. ..	6
2.5.1. Kapsül	6
2.5.2. Pilus (Fimbria).....	6
2.5.4. Sideroforlar	7
2.5.6. Alfa Hemolizin	7
2.5.7. Serum Direnci.....	7
2.5.8. Biyofilm Oluşturma	7
2.6. Biyofilm.....	8
2.6.1. Biyofilmin Oluşum Mekanizması.....	9
3. MATERYAL VE METOT	12
3.1. Materyal.....	12
3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilen İzolatlar	12
3.2. Metot.....	12
3.2.1. İzolatların Tanımlanması	12
3.2.2. Biyofilm Varlığının Araştırılması.....	12
3.2.3. Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun (MİK) Belirlenmesi	13
3.2.4. Antibiyofilm Aktivitesinin Belirlenmesi	14
3.2.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme	14
3.2.5. İstatistiksel Analiz	15
4. BULGULAR.....	16
4.1. Biyofilm Souçları.....	16
4.2. Minimum inhibitör Konsantrasyon (MİK) Sonuçları.....	17
4.3. Antibiyofilm Sonuçları.....	23
4.4. SEM Görüntüleri.	23
5. TARTIŞMA.....	25
6. SONUÇ	29
KAYNAKLAR	30
EKLER.....	36
ÖZGEÇMİŞ	37

SİMGELER VE KISALTMALAR

µl	: Mikrolitre
APAT	: Ayaktan parenteral antibiyotik tedavisi
ATCC	: American Type Culture Collection
EMB	: Eozin metilen blue
EPS	: Ekstraselüler polimerik madde
ETT	: Endotrakeal tüpler
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
GSBL	: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
HV	: Hipervirülan
İYE	: İdrar yolu enfeksiyonu
KAMHB	: Katyon ayarlı Mueller-Hinton broth
MBEC	: Minimum biyofilm eradikasyon konsantrasyon
MDR	: Çoklu ilaca dirençli
MİK	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
R	: Dirençli
S	: Duyarlı
SEM	: Taramalı elektron mikroskopu
TSB	: Triptik Soy Broth

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Çalışmaya dahil edilen izolatlarının servislere göre dağılım grafiği	16
Şekil 4.2. Mikrotitrasyon plak görüntüsü	17
Şekil 4.3. 48'no lu izolatın 1000 (A) ve 5000 (B) büyümtelem SEM görüntüleri	24
Şekil 4.4. 52'no lu izolatın 1000 (A) ve 5000 (B) büyümtelem SEM görüntüleri	24
Şekil 4.5. 56'no lu izolatın 1000 (A) ve 5000 (B) büyümtelem SEM görüntüleri	24
Şekil 4.6. 91'no lu izolatın 1000 (A) ve 5000 (B) büyümtelem SEM görüntüleri	24
Şekil 4.7. 118'no lu izolatın 1000 (A) ve 5000 (B) büyümtelem SEM görüntüleri	24

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. <i>K. pneumoniae</i> 'nin taksonomisi	4
Tablo 3.1. Biyofilm aktivitelerini değerlendirme ölçeği	13
Tablo 4.1. Tüm izolatların biyofilm oluşturma dereceleri ve biyofilm oluşturan izolatların antibiyotik MİK değerleri	17
Tablo 4.2. Antibiyofilm aktivitesi çalışılan izolatların MİK ve test edilen sub-MİK değerleri	22
Tablo 4.3. Antibiyofilm aktivitesi çalışılan izolatların test edilen sub-MİK değerlerinin biyofilm inhibisyon sonuçları	23

1. GİRİŞ

Antibiyotik direnci dünyada ve ülkemizde önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmekte ve ilaca dirençli suşların neden olduğu enfeksiyonlar zaman içinde artış göstermektedir. ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) tarafından antibiyotik direnci açısından tehdit oluşturan ilk 18 mikroorganizmanın özetlendiği bir raporda, tehdit düzeyi açısından "acil öncelikli" grup olarak sınıflandırılan üç mikroorganizma grubundan biri karbapenem dirençli *Enterobacter* cinsi üyeleri olduğu bildirilmiştir (CDC, 2013).

Enterobacteriaceae familyasının bir üyesi olan *Klebsiella* türlerinin insanlarda hastalığa neden olan en önemli türlerinden biri *Klebsiella pneumoniae*'dir. Sağlıklı bireylerde pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları ve karaciğer apselerine neden olabilir. Bununla birlikte, enfeksiyonların çoğu, farklı klinik tabloları olan veya hastanede yatan kişilerde meydana gelmektedir (Donnenberg et al., 2010).

Toplum veya hastane kaynaklı enfeksiyonlar arasında ilk sırada yer alan gram negatif bakteriler özellikle çocuklarda, kadınlarda ve yaşlılarda idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) en önemli etkenleri arasındadır ve ayrıca hastane enfeksiyonlarının önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Gram negatif bir bakteri olan *K. pneumoniae*'de idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan bakteriler sıralamasında *Escherichia coli*'den sonra ikinci sırada yer almaktadır (Özsüt vd., 2002 ; Özden vd., 2003 ; Akçay vd., 2004 ; Miller et al., 2004).

Doğada yaygın olarak bulunan *K. pneumoniae* sağlıklı bireylerin solunum yolları ve dışkılarında %5-10 oranında bulunabilmektedir. *K. pneumoniae* alkolizm, diyabet, kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi ciddi solunum savunma sistemi sorunları olan kişilerde fırsatçı bir enfeksiyon faktörü olarak görülebilmektedir (Ustaçelebi, 1999). Ayrıca *K. pneumoniae* izolatları başlıca pnömoniye neden olmakla birlikte idrar yolu enfeksiyonlarına, yara enfeksiyonlarına ve bakteriyemiye de neden olabilmektedirler (Ustaçelebi, 1999).

K. pneumoniae izolatlarının kapsül polisakkaritleri, yüksek mukozal viskozite, pili, toksinler ve demir alımının determinantları gibi pekçok virülans faktörü bulunabilmektedir (Hennequin ve Robin., 2016). Bunların yanında biyofilm oluşturma yeteneği *K. pneumoniae*'nin bir diğer önemli virülans faktörüdür (Domenico et al., 1994).

Biyofilm, birbirine veya yüzeylere ve dokulara bağı bakterilerin kendi ürettiği organik polimerlerden oluşan bir matris içine gömülmesidir. Biyofilmler bakterileri nem, sıcaklık ve pH farklılıkları gibi çevresel koşullardaki değişikliklerden ve UV hasarından koruyabilmektedir. Biyofilm içinde gömülü olan bakteriler kümeler halinde, ekzopolisakkarit substratlarında yer aldığından fagositozları zorlaştırır ve hümmoral bağışıklık sisteminin bileşenlerinin bakterilere ulaşması engellenir (Hoiby, 2017).

Biyofilm yapısını ortadan kaldırmak için antimikrobiyal ajanların kullanımı, mekanik temizlik, mikroorganizmaların yüzeylere yapışmasını önlemek için çeşitli kimyasalların kullanımı ve biyofilm yapılarının ayrılmasını teşvik etmek gibi farklı yöntemler kullanılabilir (Doğruöz, 2014).

Çalışmamızda; idrar örneklerinden izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarında meropenem ve seftriakson antibiyotiklerinin sub-minimal konsantrasyonlarının biyofilm oluşumuna etkinliği araştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enterobacteriaceae Ailesi

Enterobacteriaceae familyasının üyeleri olan bakteriler gram negatif, ağırlıklı olarak hareketli, fakültatif anaeroblardır ve aile yaklaşık 100 tür içermektedir (Işık, 2007).

Enterobacteriaceae ailesi tıbbi olarak gram negatif basillerin en büyük ve en heterojen grubudur. Ailenin *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* vb. dahil olmak üzere farklı cinsleri vardır. Bu mikroorganizmalara bağırsak bakterileri veya koliformlar denilebilir. *E. coli* gibi bazıları normal mikrobiyotanın üyeleridir ve fırsatçı patojenler olarak tanımlanır. Diğer (örn. *Salmonella*, *Shigella*) bazı cinsler her zaman patojendir ve hastalığa neden olur. Aile üyeleri isteğe bağlı anaeroblar veya aeroblardır. Çeşitli toksinler ve virülans faktörleri üretebilirler (Gür, 2014).

2.2. Enterobacteriaceae Ailesinin Genel Özellikleri ve Morfolojileri

Enterobacteriaceae ailesi üyeleri küçük, 0,5-3 µm genişliğinde ve 1-6 µm uzunluğunda, sporsuz gram negatif basillerdir. Enterobacteriaceae'lerde hücreyi çevreleyen ve kapsül adı verilen ince bir kılıf bulunabilmektedir (Bilgehan, 1992). Enterobacteriaceae üyesi mikroorganizmalar MacConkey'in besiyerinde kolaylıkla üreyebilen basillerdir. Bazıları hareketli veya hareketsiz, peripliküler kırıplara sahiptir ve DNA'daki guanin + sitozin (G + C) oranı %39-59 arasındadır. Enterobacteriaceae familyasına içinde sınıflandırılan *K. pneumoniae* çevremizde çok yaygın olarak bulunduğu bilinmektedir. *K. pneumoniae* insan bağırsağında, üriner sistemde ve solunum sisteminde asemptomatik olarak bulunabilmekle birlikte, ölüme yol açabilecek ciddi enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (Erdem, 1999).

Klebsiella türlerin büyük, mukoid ve viskoz koloniler oluştururlar. Bu kolonilerin uzun süreli inkübasyonlarda karışabildiği görülmektedir (Gür, 2014).

2.3. *Klebsiella* Türler

2.3.1. *Klebsiella* Türlerinin Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

Klebsiella türleri gram negatif, sporsuz, hareketsiz, kapsüllü basillerdir. Bu mikroorganizmalar üreyi hidrolize eder, hidrojen sülfür (H₂S) üretmezler ve fenilalanin deaminasyonu yapmazlar. İndol (*Klebsiella oksitosin* hariç) ve metil

kırmızısı reaksiyonu negatif; Voges-Proskauer, sitrat ve laktoz test sonuçları da pozitifdir. Diğer bağırsak bakterilerinden farklı olarak, *Klebsiella*'nın belirgin bir kapsülü vardır ve kültür ortamında büyük M tipi mukuslu kolonileri oluşturular (Erdem, 1999; Bilgehan, 2000).

Klebsiella türlerinin optimum üreme sıcaklığı $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ olmakla birlikte *K. pneumoniae* dışındaki türler 44°C 'de üreme gösterebilmektedirler. Üremeleri için optimum pH 7,2'dir (Toreci, 2002; Ristuccia PA, 1984).

2.3.2. Taksonomi

Carl Friedlander tarafından, pnömoni etkeni olan gram-negatif basil olarak tanımlanmış olması nedeniyle de uzun yıllar 'Friedlander basili' olarak tanımlanan *Klebsiella* cinsi Alman mikrobiyolog Edwin Klebs'in anısına isimlendirilmiştir (Topçu vd., 2008).

Tablo 2. 1. *K. pneumoniae*'nin taksonomisi

Alem: Bacteria
Şube: Proteobacteria
Sınıf: Gammaproteobacteria
Takım: Enterobacterales
Aile: Enterobacteriaceae
Cins: <i>Klebsiella</i>
Tür: <i>Klebsiella pneumoniae</i>

2.3.3. Epidemiyoloji ve Patogenez

Tipik pnömoniye neden olabilen *K. pneumoniae* izolatları sıklıkla klinik örneklerde üretilebilir. Sağlıklı kişilerin orofarenksinde nadiren bulunmakla birlikte hastanede yatan hastalarda prevalansı %20'lere kadar çıkabilmektedir. Alkol bağımlılığı, diyabet ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalarda akciğer enfeksiyonları yaygındır ve bu hasta popülasyonlarında *Klebsiella* kolonizasyonu bir enfeksiyon kaynağı olabilir. *Klebsiella*'nın neden olduğu pnömoni sıklıkla alveolar boşlukların nekrotik yıkımı, kavitasyon ve hafif kanlı balgam üretimi ile sonuçlanır. Bu bakteriler aynı zamanda yaralardan, yumuşak dokulardan ve idrar yolu enfeksiyonlarından da sorumludur. Ayrıca enterit özellikle bebeklerde menenjitte neden olabilir (Topçu vd., 2008).

K. pneumoniae, insan kalın bağırsağının ve üst solunum yollarının normal mikrobiyotasında bulunabilmektedir. Ayrıca idrar yolu ve hastane enfeksiyonlarına neden olan bakteriler arasında *E. coli*'den sonra sıklıkla görülebilen türler arasında yer almaktadır (Aladağ ve Durak, 2007).

K. pneumoniae insanlarda pnömoni, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve yara enfeksiyonlarına neden olabilen fırsatçı bir patojendir (Bilgehan, 2000). Pnömoni, özellikle diyabet, alkolizm ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan kişilerde görülebilmektedir. Bu hastalarda aniden ateş, titreme, şiddetli bel ağrısı, nefes darlığı, balgam çıkarma ve taşikardi gelişebilmektedir. Lezyonlar hemorajik ve nekrotik olduğundan dolayı balgam paslı veya "kuş üzümü peltasine" görünümündedir (Bilgehan, 2000; Akalın, 2003).

K. pneumoniae kaynaklı bakteriyemi, intravenöz kateterizasyon, pulmoner enfeksiyon veya bağırsak translokasyonundan kaynaklanır ve menenjit, safra kesesi enfeksiyonu ve apse gibi enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (Eisenstein ve Zaleznik, 2000).

Klinik açıdan önemli olan diğer *Klebsiella* türlerinden; *K. rhinoscleromatis*, burnun granülomatöz hastalığına; *K. ozanae*, kronik atrofik rinite neden olabilmektedirler (Topçu vd., 2008).

2.4. Antimikrobiyal Ajanlar

2.4.1 Meropenem

1970'lerin ortalarında keşfedilen karbapenemler, karbapenem çekirdekli beta-laktam antibiyotiklerdir ve 1986'dan beri klinik kullanımda bulunmaktadır. Karbapenemler arasında meropenem, yarı sentetik parenteral bir antibiyotiktir. Hücre duvarı sentezini engelleyerek çalışan antibiyotikler bakterisittir (Fish ve Singletary, 1997).

Meropenem transpeptidaz ve karboksipeptidaz enzimlerine bağlanır ve bu sayede hücre duvarı sentezini inhibe eder. Geniş bir antibakteriyel spektruma sahip olan meropenem birçok betalaktamazın inaktivasyonuna karşı kararlıdır. (Craig, 1997; Fish ve Singletary, 1997).

2.4.2. Seftriakson

1980'lerden sonra kullanılmaya başlanan seftriakson, üçüncü kuşak bir sefalosporindir (Clavenna, 2011; Bush, 2012). Yarılanma ömrü 8-12 saat kadar olan bu antibiyotik ülkemizde ve hatta dünyada en sık kullanılan sefalosporinlerden biridir (Duncan et al., 2012).

Seftriakson genellikle gram negatif bakterilere karşı önceki nesillere göre daha etkili bir antibiyotiktir (Richards et al., 1984).

2.5. *K. pneumoniae*'nin Virulans Faktörleri

K. pneumoniae başta kapsüller polisakkaritler, yüksek mukoviskozite (HV), fimbrialar, toksinler ve demir alımının belirleyicileri olmak üzere birçok virülans faktörüne sahiptir (Hennequin ve Robin., 2016).

2.5.2. Kapsül

Kapsül *Klebsiella*'nın en önemli virülans faktörülerinden biridir (Ehrenwort ve Baer 1956; Domenico et al., 1982; Cryz vd., 1984; Highsmith ve Jarvis 1985). Kapsül yapısı hem bakterisidal serum faktörü sayesinde bakterin ölümünü önler hem de polimorfonükleer granülositlerin fagositozdan bakteriyi korur (Williams et al., 1983; Podschun et al., 1992; Podschun ve Ullmann 1992). Antifagositik işlevlerinin yanında, *Klebsiella* kapsüller polisakkaritlerinin, makrofajların fonksiyonel kapasitesini ve farklılaşmasını inhibe ettiği in vitro olarak gösterilmiştir (Yokochi et al., 1977; Yokochi et al., 1979).

2.5.3. Pilus (Fimbria)

Kümelenmiş küresel protein alt birimlerinden (pilus) oluşan pili, 15-26 kDa moleküler ağırlığında, 1-11 nm çapında ve 10 µm uzunluğunda olabilen yapılardır. Konak hücrelere yapışma (adhezyon), bir enfeksiyonun oluşumundaki ilk önemli aşamadır. Enterobacteriaceae ailesine ait türlerin adhezyon özellikleri genellikle farklı fimbria türleri tarafından sağlanmaktadır (Jones ve Isaacson, 1983; Ofek ve Doyle, 1994). Bunlar *Klebsiella* türlerinde tip 1 ve 3 fimbria olarak tanımlanmıştır (Old et al., 1985; Podschun et al., 1987).

Tip 3 fimbria diğer fimbriaların aksine, sadece tanenle işlenmiş kırmızı kan hücrelerini aglutine eder. Anti-mannoz, *Klebsiella* benzeri hemagglütinasyon (MR/K-HA) adı, bu fimbria tipinin sadece *Klebsiella* tarafından sentezlendiği anlamına

gelsede, yapılan çalışmalar pekçok enterobacteriaceae cinsinde Tip 3 fimbria bulunduğunu göstermektedir (Clegg ve Gerlach, 1987).

Tip 3 fimbria, solunum ve boşaltım sistemlerinin endotel ve epitel hücreleri gibi çeşitli insan hücrelerine *Klebsiella*'yı bağlayabilir. Ek olarak, inert yüzeylerde yapışmayı ve biyofilm oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (Würker et al., 1990, Hornick et al., 1991, Hornick et al., 1992, Hornick et al., 1995, Tarkkanen et al., 1997; Di Martino et al., 2003).

2.5.4. Sideroforlar

Sideroforlar, demir bağlama yeteneğine sahip düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerdir. Bağırsak bakterilerinde enterobaktin (fenat) ve aerobaktin olmak üzere iki tip siderofor tanımlanmıştır (Kaleli ve ark 2006).

Klebsiella için, konakçı demir arzının patojenite üzerinde önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Gine domuzlarında *Klebsiella* enfeksiyonuna duyarlılığı parenteral demir uygulamasından sonra önemli ölçüde artmıştır (Khimji ve Miles, 1978).

2.5.5. Alfa Hemolizin

Alfa hemolizin; kültür ortamında bulunan hücre dışı, tripsin duyarlı, suda çözünür bir proteindir. Alfa hemolizin tanımlayıcı özelliği, kırmızı kan hücrelerini parçalama yeteneğidir. Alfa hemolitik monomerler bakteriler tarafından salgılanır. Bu monomerler daha sonra hedef hücrenin zarına bağlanarak silindirik heptamerler oluşturur. Bu oligomerik form, ökaryotik hücreleri parçalama yeteneğine sahiptir (Kepekçi, 2005).

2.5.6. Serum Direnci

Birçok kommensal gram negatif bakteri, insan serumunun bakterisidal etkilerine karşı hassastır. Bu sonuca göre *K. pneumoniae*'nin klinik izolatları genellikle serorezistandır ve "serorezistans" özelliği enfeksiyonun başlaması ve semptomların şiddeti ile ilişkilidir (Roantree ve Rantz, 1960; Gower et al., 1972; Olling, 1977; Björkstén ve Kaijser, 1978).

2.5.7. Biyofilm Oluşturma

Biyofilm, yüzeylere yapışan ve polimerik yapıda bir matriks tabakası içinde bulunan, mikroorganizma toplulukları olarak tanımlanabilmektedir. Ortamdaki aşırı

nem, yüzey özellikleri, pH, besin miktarı ve sıcaklık gibi çevresel faktörler biyofilm oluşumunu ve gelişimini etkileyebilmektedir. Planktonik hücrelerle karşılaştırıldığında, biyofilm hücreleri antimikrobiyal ajanlara maruz kalmayı önlemek veya azaltmak için çeşitli engellere sahiptir ve bu sayede antimikrobiyal ajanlara karşı daha dirençli olabilmektedirler. Biyofilm oluşumu canlı hücrelerde veya cansız yüzeylerde meydana gelebilir (Chae ve Schraft, 2000; O'Toole ve Kaplan, 2000; Donlan, 2002; Borucki et al., 2003).

Günümüzde yabancı cisim implantasyonu modern sağlık hizmetlerinde yaygın bir uygulama haline geldiği görülmektedir. Bununla birlikte yabancı cisimlerin kullanımı yeni problemler ortaya çıkarabilmektedir. Buna bağlı olarak da özellikle hastane enfeksiyonlarındaki artış dikkati çekmektedir. *Klebsiella* izolatlarının materyallere yapışma ve biyofilm oluşturma yeteneği, özellikle kateterle ilişkili enfeksiyonların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (National Nosocomial Surveillance System Report, 2000).

Materyallere yapışma ve biyofilm oluşturma yeteneği, kateterle ilişkili enfeksiyonlarda etken olan *Klebsiella* izolatlarının patogeneğinde önemli bir virulans faktörüdür (Gün ve Ekinci, 2009).

2.6. Biyofilm

Diş yüzeyindeki mikropları ilk kez mikroskop kullanarak gözlemleyen Anthony van Leeuwenhoek, biyofilmleri mikrobiyal topluluklar oluşturan "hayvanlar" olarak tanımlamıştır. Heukelekian ve Heller; bu olguya "şişe etkisi" adını vermekte ve mikropların su ortamında tutundukları yüzeylerde kümelenerek bakteri üremesini ve aktivitesini önemli ölçüde artırdığını belirtmektedirler (Donlan, 2002).

Biyofilmler, yüzeylere tutunan, bazı yapısal bütünlüklerle birlikte yaşayan ve varlıklarının devamı için gerekli işlevleri yerine getirmek üzere birbirleriyle iletişim kuran bakterilerin oluşturduğu karmaşık yapılardır (Çiftçi, 2005). Biyofilmin en iyi tanımlarından biri de mikroorganizmaların herhangi bir yüzeye, arayüze veya birbirine yapışmasını sağlayan, büyüme hızlarına ve gen transkripsiyon tipi özelliklerine bağlı olarak farklı yüzeyler gösterebilen, hücre dışı polimerlerden oluşan bir matris formudur (Gün ve Ekinci, 2009).

Biyofilm oluşturma yeteneğinde olan izolatların etken olduğu enfeksiyonların kontrol altına alması ve yok edilebilmeleri için kullanılan antibiyotiklerin konsantrasyonunun, planktonik bakterilere göre 1000 kata kadar arttırılması gerekebilmektedir (Costerton et al., 1993). *Klebsiella*'daki biyofilm yapısı özellikle doku enfeksiyonlarının patojenitesinde çok önemlidir. *K. pneumoniae* biyofilm yapısının etki mekanizması, özellikle pürülan karaciğer apselerinde belirsizdir (Wu, 2010).

Biyofilm yapısının %97 gibi önemli bir kısmı sudan oluşmaktadır. Matriksteki diğer bileşenler ise; %1-2 ekzopolisakkaritler veya hücre dışı matris (EPS), %1-2 globüler glikoproteinler ve diğer proteinler, %1-2 DNA, lipidler, fosfolipidlerden oluşur. Bununla birlikte, her biyofilm mikroorganizmanın tipine, fizyolojik özelliklerine, ortamın pH'sına, sıvının şekline ve fiziksel özelliklerine bağlı olarak benzersiz özellikler geliştirebilir (Allison, 2003). Çeşitli çalışmalar, çeşitli bakteri türlerinin oluşturduğu fibrillerin biyofilm oluşumuna katkıda bulunduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, biyofilm oluşumu için tip 3 fimbria gerekli değildir (Jagnow ve Clegg, 2003).

Organizmaların yüzeylere geri dönüşümsüz bağlanması için gerekli olan ana hücre dışı bileşeni oluşturan hücre dışı matris, biyofilmin yapısını oluşturur. Biyofilmlerin yapısı, saf kültürlerle özđu türler ve çoklu kültürlerle özđu substratlardır. EPS'nin yapısı polisakkaritler, proteinler, lipidler, DNA ve sudan oluşur. Yüzeğe yakın mikroorganizmalar burada çoğalarak mikrokoloniler oluştururlar ve bu mikrokoloniler gelişerek bir biyofilm tabakası oluştururlar (Gün ve Ekinci, 2009).

2.6.1. Biyofilmin Oluşum Mekanizması

Biyofilmler çok farklı koşullar altında oluşabilmesine rağmen, en basit biyofilmlerin bile karmaşık dinamikleri vardır. Biyofilm oluşumu, mikroorganizmaların yüzeylere geri dönüşümsüz bir şekilde bağlanmasına ve büyümesine neden olan, bağlanma ve matris oluşumunu sağlayan hücre dışı polimerler üreten ve organizmanın fenotipindeki büyüme hızları ve gen transkripsiyonu ile orantılı olan bir süreçtir. Bakterilerde biyofilm gelişiminin başlaması, besinlerin mevcudiyeti gibi belirli faktörlere bağlıdır. Biyofilm gelişimi taze ortam temini ile devam etmektedir ve ortamdaki besinler tükendiğinde yüzey bağlantıları zayıflar ve planktonik moda dönerler. Besleyici ortam eksikliği

hücrelerin yeni besin kaynakları aramasına, çevreye daha iyi uyum sağlamasına ve yayılmasına izin verebilmektedir (Allison, 2003; Gün ve Ekinci, 2009). Birçok çalışmada biyofilmlerin biyodönüşümlerini (yapışma, adezyon, agregasyon, olgunlaşma ve yırtılma) sabit noktalarda tamamladığı gözlemlenmiştir (Şimsek ve Bulut, 2012).

Yapışma sürecini takiben biyofilm oluşturma adımı doğrultusunda farklılaşma sürecinin başlaması, çekirdek algılama sistemi adı verilen başka bir iletişim sisteminin yanıtına bağlıdır. Bu sistemi kullanarak mikroplar, çevreleyen mikrobiyal popülasyonların yoğunluğunu belirler. Herhangi bir yüzeye yapışan mikroplar, "ben buradayım" mesajıyla çevreye bir sinyal gönderir. Sinyalin lokal konsantrasyonu, yüzeye bağlanan mikroorganizmaların sayısı ile artar. Sinyal moleküllerinin konsantrasyonu arttıkça, bir dizi biyofilm oluşum süreci başlatılır. Biyofilmlerdeki mikroplar, hücre içi düşük moleküler ağırlıklı haberciler yardımıyla iletişim kurar. Bu aşamada mikroorganizmalar yüzeye yapışır veya kuvvetli bir şekilde tutunurlar (Öztürk vd., 2008).

2.6.2. Olgunlaşma

Herhangi bir yüzeye bağlı bakteriler bölünür ve geri dönüşümsüz olarak çoğalır, bir biyofilmin en küçük birimi olan bir mikrobiyal koloni oluşturur. Mikrokoloniler büyür ve karmaşık mantar benzeri yapılar veya kuleler haline gelir. Ortamdaki planktonik bakteriler de oluşan mikrokolonilere tutunarak kolonizasyon sağlarken, yapışık hücreler polimerler (EPS) üretir. Ortaya çıkan polimer yapı, bakterilerin yüzeylerde hareketsiz kalmasını ve çevresel etkenlere karşı direnç kazanmasını sağlar (Vuong ve Otto, 2002; Öztürk vd., 2008).

2.6.3. Kopma veya Ayrılma

Bakteri veya bakteri kümeleri biyofilm tabakasından ayrılır ve çevreye yayılır. Bu ayrılma, EPS'nin azalması, biyofilm yapısının zarar görmesi gibi fiziksel kuvvetlerin etkisi veya tek tek hücrelerin veya hücre kümelerinin yırtılması gibi dış kuvvetlerin etkisi altında gerçekleşir. Olgun biyofilm yapılarında zamanla parçalanmış mikrokoloniler çeşitli faktörlerin yardımıyla farklı tutunma yüzeylerine hareket ederek yeni biyofilm yapıları oluşturabilirler (Schachter, 2003).

K. pneumoniae, önemli bir virülans faktörü olarak kalın bir biyofilm tabakası oluşturabilir (Seifi et al., 2016). Materyallere yapışma ve biyofilm oluşturma

yeteneği, kateterle ilişkili enfeksiyonlarla ilişkili *Klebsiella*'nın patogenezinde önemli bir özelliktir (Gün ve Ekinci, 2009).

Klebsiella patogenezinde biyofilm oluşumu ve gelişiminin önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür. İdrar yolu enfeksiyonları ile kateter ilişkili enfeksiyonlar ve biyofilm oluşumu arasında bir ilişki olup olmadığı birçok çalışmada araştırılmıştır. Tekrarlayan ve kronik idrar yolu enfeksiyonlarında, idrar yollarında biyofilm oluşumu bu enfeksiyonların patogenezinini açıklayabileceği düşünölmektedir (El Fertas-Aissani et al., 2013; Hoiby, 2017).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilen İzolatlar

Çalışmamız Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 30.12.2020 tarihinde alınan OMÜ KAEK 2020/738 Karar nolu izni ile yürütülmüştür (Ek-1).

Çalışmaya dahil edilen izolatlar Aralık 2018 – Aralık 2020 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Bakteriyoloji Laboratuvarı'na rutin inceleme için gönderilen idrar örneklerinden izole edilen suşlardan oluşturulmuştur. Bu kapsamda çalışmamıza toplam 205 adet *K pneumoniae* izolatı dahil edilmiştir. Ayrıca *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 suşları çalışmada kontrol izolatı olarak kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. İzolatların Tanımlanması

Laboratuvara rutin gönderilen idrar örnekleri koyun kanlı agar (bioMérieux) ve Eosin Metilen Blue (EMB) agara (bioMérieux) ekim yapıldıktan sonra petriyer 37°C'de 18-24 saat süre ile inkübasyona kaldırıldı. İnkübasyon işleminin sonunda üreme olduğu görülen kültürler değerlendirmeye alındı ve izolatların tanımlanabilmesi için gram boyama ve ardından da Vitek-MS (bioMerieux, Fransa) sistemi kullanıldı. Bu işlemlerin sonunda *K. pneumoniae* olarak tanımlanan izolatlar saklama ortamına alınarak çalışılncaya kadar -20°C'de muhafaza edildi.

3.2.2. Biyofilm Varlığının Araştırılması

İzolatların biyofilm oluşturma yetenekleri mikrotitrasyon plak yöntemi kullanılarak araştırıldı. Bunun için kanlı agarda üretilmiş olan *K. pneumoniae* izolatlarından 1-2 koloni alınarak, 4 ml %0.25 glukoz içeren Triptik Soy Buyyon (TSB) (Biolife- İtalia) besiyeri bulunan tüplere aktarıldı ve 37°C'de 1 gece inkübe edildi. Süre sonunda üreyen bakteri süspansiyonu TSB besiyeri kulanılarak 1:20 oranında dilüe edildi ve 96 kuyucuklu polistren mikrotitrasyon plaklarına 200 µl aktarıldı. Her izolat için üç kuyucuk hazırlandı ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra sıvı besiyeri aspire edildi, kuyucuklar 200'er µl distile su kullanarak 3'er kez nazikçe yıkandı ve ters çevrilerek kurumaya bırakıldı.

Kuruma işleminin ardından kuyucuklara %1'lik kristal viyole solüsyonunun 100 µl dağıtılarak 15 dakika oda sıcaklığında beklendi. Süre sonunda mikropalaklar distile su ile tekrar 3 kez yıkandı ve yine ters çevrilerek kurumaya bırakıldı. Son olarak kuyucuklara 200 µl etanol/aseton (80/20) karışımı ilave edilerek 10 dakika bekletildi ve optik okuyucuda okutuldu. Elde edilen optik dansite (OD) değerleri yorumlanmak üzere kaydedildi. Pozitif kontrol olarak *K. pneumoniae* ATCC 700603, negatif kontrol olarak da *E. coli* ATCC 25922 suşları kullanıldı. Biyofilm oluşumları Chusri vd., tarafından bildirilen ve Tablo 1'de gösterilen pozitif ve negatif kontrol absorbans değerlerine dayalı ölçüğe göre değerlendirildi (Chusri ., 2012).

Tablo 3.1. Biyofilm aktivitelerini değerlendirme ölçüğü

Optik Dansite	Yapışma	Skor
KOD > MBOD	Yapışma olmayan	0
KOD < MBOD < 2 KOD	Zayıf yapışma	1
2KOD < MBOD < 4 KOD	Orta derece yapışma	2
4KOD < MBOD	Güçlü derecede yapışma	3
KOD: Kontrol Optik Dansitesi MBOD: Mikroorganizma Biyofilmi Optik Dansitesi		

3.2.3. Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun (MİK) Belirlenmesi

Çalışmaya dahil edilen izolatlar içinde biyofilm ürettiği tespit edilen izolatlara meropenem ve seftriakson antibiyotikleri için antibiyotik duyarlılık testi çalışıldı. Çalışmaya dahil edilen antibiyotikler; seftriakson, ve meropenem distile su ile çözülerek 8192 µg/ml stoklar halinde hazırlandı ve bu stoklar çalışılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

Mikrodilasyon yöntemini steril 96 kuyucuklu U tabanlı plaklarda (TPP, Switzerland) çalışıldı. Bütün kuyucuklara 100 µl katyon ayarlı Mueller-Hinton Broth (KAMHB) (HiMedia, Hindistan) konuldu. İlk kuyucuklara antibiyotikler istenilen final konsantrasyonun 2 katı kadar olacak şekilde hazırlandı ve 100 µl dağıtıldı. Daha sonra 10. kuyucuğa kadar diğer konsantrasyonlar hazırlandı. Bu sayede meropenem ve seftriakson için 64-0.125 µg/ml ve final konsantrasyonlar hazırlanmış oldu. 11. kuyucuk pozitif kontrol, 12. kuyucuklar ise negatif (sterilite) kontrol olarak kullanıldı. Her iki antibiyotik için ayrı plaklar hazırlandı ve çalışılıncaya kadar -20°C de saklandı (Aktaş, 2013).

Çalışılacak izolatlar taze olarak üretildikten sonra inokülömları 0,5 McFarland bulanıklığında mikroorganizma içerecek şekilde serum fizyolojik içerisinde süspansiyon edildi. Buradan alınan izolat süspansiyonu KAMHB ile 1/10 sulandırıldı ve negatif kontrol kuyucukları dışında tüm kuyuculara 5 µl inoküle edildikten sonra plaklar 37°C’de 24 saat inkübasyona kaldırıldı. İnkübasyon işleminin ardından üremenin olmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edildi ve kaydedildi (Dündar, 2013). Sonuçlar European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)’a göre değerlendirildi (EUCAST, 2021).

Sub-MİK çalışması planlanan beş izolatın 64-0.125 µg/ml dilüsyonları dışında kalan MİK değerlerinin tespit edilebilmesi için bu izolatlar her iki antibiyotikle 512-0.0075 µg/ml aralığında 17 dilüsyon olacak şekilde tekrar tarif edildiği şekilde mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmıştır.

3.2.4. Antibiyofilm Aktivitesinin Belirlenmesi

Çalışmamıza dahil edilen izolatlardan biyofilm oluşuma gücü orta derece (+2) olan beş izolatta sub-MİK değerlerindeki antibiyotik içeren ortamlarda biyofilm oluşumu inhibisyonu araştırılmıştır. Bunun için, MİK değerleri belirlenmiş olan beş izolatın MİK/2, MİK/4 ve MİK/8 konsantrasyonlarda antibiyotik içeriği %0,25 glukozlu TSB besiyerleri hazırlandı ve bu beş izolatın her iki antibiyotik için üç kat sub-MİK değeri üçer kuyu olacak şekilde yukarıda tarif edilen mikrotitrasyon palk yöntemi ile araştırıldı (Presterl et al., 2005; Narasimhaswamy et al, 2015; Öcal vd., 2017).

3.2.5. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ile Görüntüleme

Sub-MİK çalışılan izolatları biyofil oluşumlarının gözlemlenebilmesi için elektron mikroskopu ile görüntüleme yapıldı. Bu işlem için sub-MİK çalışılan izolatlar kanlı agar besiyerine pasajlandı ve bir gece inkübe edildi. İnkübasyon sonunda oluşan kolonilerden %0,25 glukoz içeren TSB besiyerine ekim yapıldı ve 36°C’ de bir gece inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra kültürler %0,25 glukoz içeren TSB besiyeri ile 1/20 oranında dilüe edildi. Elde edilen inokülden 1 ml 24 kuyucuklu polistrien plaklara dağıtıldı ve bu işlemden sonra steril polistrien parçaları kuyucuklara yerleştirildi. Hazırlanan 24 kuyucuklu polistrien plaklara 36°C’ de iki gece inkübasyona bırakıldı. İşlem sonunda kuyucuklardaki besiyeri boşaltıldı ve kuyucuklardaki polistrien parçaları 3 kere serum fizyolojikle yıkandı. Yıkama

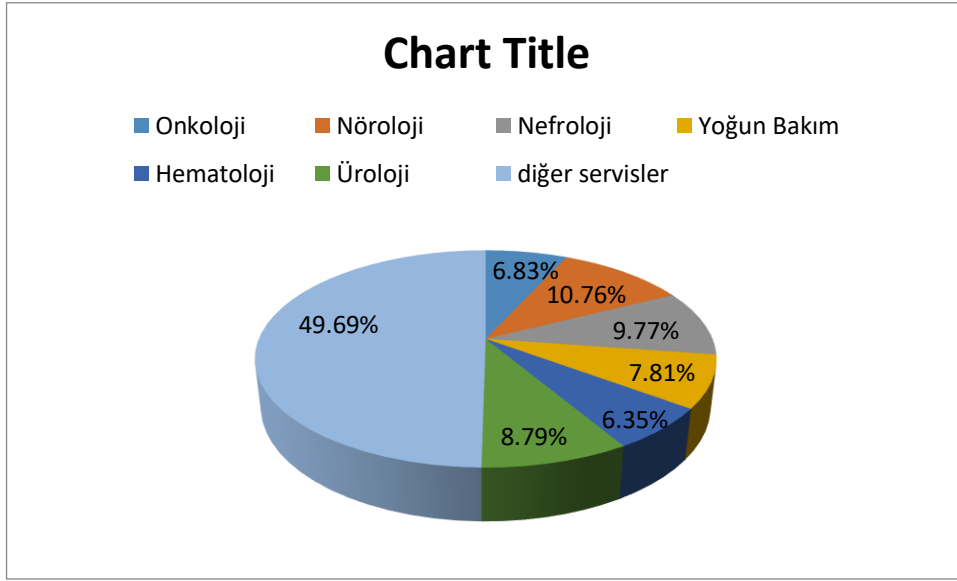
işleminde ardından temiz bir başka 24 kuyucuklu plağa üzerinde biyofilm oluşturulan polistrien parçaları aktarıldı. Kuyucuklara polistrien parçaları kapatacak şekilde 1 ml %4 glutaraldehit ilave edildi ve 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda glutaraldehit aspire edildi ve kuyucuklara sırasıyla; %70, %80, %90, %96 ve saf olacak şekilde 1'er ml etil alkol (Isolab, Almanya) eklendi ve her biri için 10 dakika oda ısısında bekletildi. Son alkol solüsyonu aspire edildikten sonra karanlık bir ortamda oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. SEM görüntüleme Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'n de yapıldı. Taramalı elektron mikroskopunda (JEOL, ABD) görüntülenmek için plastik parçalar çift taraflı karbon bant ile alüminyum saplamalara yapıştırılarak kaplama cihazında altın/pal (Au/Pd) ile kaplandı. Polistriyen parçaları üzerinde oluşan biyofilm veya farklı antibiyotik konsantrasyonundaki biyofilm önlenimi 1000 ve 5000'lik büyütmelemlerde SEM ile görüntüledi ve görüntüler kaydedildi.

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Meropenem ve seftriakson antibiyotiklerinin duyarlılık durumlarının biyofilm oluşturma kapasitesi ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı Ki Kare testi kullanılarak araştırıldı. Analizler SPSS Statistics versiyon 21 paket program kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

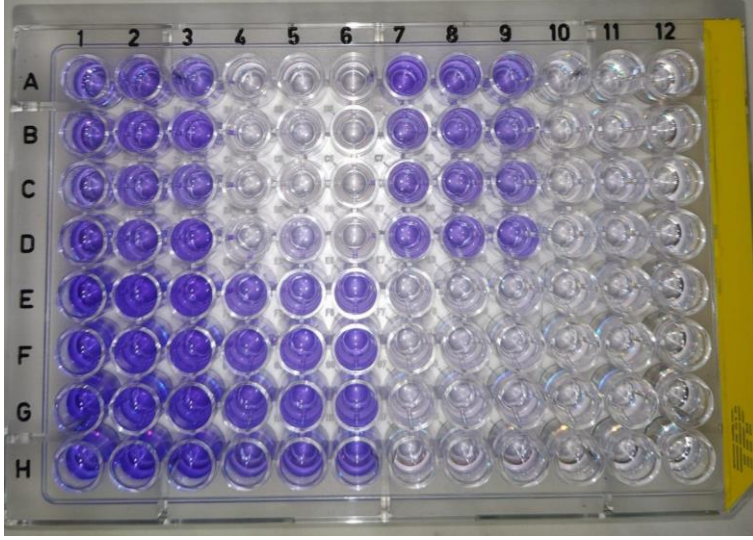
Çalışmamızda dahil edilen 205 *K. pneumoniae*'nin izole edildiği idrar örneklerinin gönderildiği servislerin dağılımı; nöroloji %10.76 (n=22), nefroloji %9.77 (n=20), üroloji %8.79 (n=18), yoğun bakım %7.81 (n=16), onkoloji %6.83 (n=14), hematoloji %6.35 (n=13), ve diğerleri %49.69 (n=102) şeklinde sıralanmaktadır. İzolatların gönderildiği servislerin dağılımı Şekil 4.1 'de verilmektedir.



Şekil 4.1. Çalışmaya dahil edilen izolatlarının servislere göre dağılım grafiği (Diğer servisler; Kardiyoloji %5.36 (n=11), Enfeksiyon Hastalıkları %4.87 (n=10), Acil ve İlk Yardım %4.39 (n=9), Çocuk Sağlığı ve Hastalıklar %4.39 (n=9), Göğüs Hastalıkları %3.90 (n=8), Dahiliye %3.90 (n=8), Beyin Cerrahi %3.90 (n=8), Kadın Hastalıkları ve Doğum %3.41 (n=7), Gastroenteroloji %3.41 (n=7), Endokrinoloji %1.95 (n=4), Romatoloji Dahiliye %1.95 (n=4), Ortopedi ve Travmatoloji %1.46 (n=3), Çocuk Cerrahisi %1.46 (n=3), Kalp Damar Cerrahi %1.46 (n=3), Çocuk Acil %1.46 (n=3), Piskatri %0.97 (n=2), Çocuk Enfeksiyon %0.97 (n=2), Genel Cerrahi %0.48 (n=1))

4.1. Biyofilm Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen 205 izolatın 119 (%58.05)'unun biyofilm oluşturmadığı, 86 (%41.95)'sının biyofilm oluşturduğu görülmüştür. Biyofilm oluşturan izolatların 56 (%27.32)'si düşük kuvvette (+1), 30 (%14.63)'ü orta kuvvette (+2) biyofilm oluşturmuştur. Çalışmamıza dahil edilen izolatların hiç birinde güçlü (+3) biyofilm oluşumu gözlenmemiştir. Örnek bir mikrotitrasyon plak görüntüsü Şekil 4.2'de verilmiştir. Çalışmaya dahil edilen izolatların biyofilm oluşturma özellikleri Tablo 4.1'de toplu olarak sunulmuştur.



Şekil 4.2. Mikrotitrasyon plak görüntüsü

4.2. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Sonuçları

Mikrotitrasyon yöntemi ile biyofilm oluşturduğu tespit edilen izolatların, seftriakson ve meropenem minimum inhibitör konsantrasyonları sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır. Çalışmaya dahil edilen tüm izolatların biyofilm oluşturma dereceleri ve biyofilm oluşturan izolatların her iki antibiyotik için MİK değerleri Tablo 4.1’de toplu olarak verilmiştir.

Tablo 4.1. Tüm izolatların biyofilm oluşturma dereceleri ve biyofilm oluşturan izolatların antibiyotik MİK değerleri

NO	MEROPENEM MİK	SEFTRİAKSON MİK	BIYOFİLM
1	-	-	0
2	-	-	0
3	-	-	0
4	≤0.125	>64	1
5	>64	>64	1
6	32	>64	1
7	-	-	0
8	0.25	>64	1
9	≤0.125	>64	2
10	-	-	0
11	-	-	0
12	-	-	0
13	>64	>64	1
14	0.25	>64	1
15	-	-	0
16	-	-	0

17	-	-	0
18	-	-	0
19	-	-	0
20	≤ 0.125	>64	1
21	-	-	0
22	-	-	0
23	8	>64	1
24	4	>64	1
25	0.5	≤ 0.125	1
26	-	-	0
27	-	-	0
28	-	-	0
29	-	-	0
30	0.25	>64	2
31	0.25	>64	1
32	-	-	0
33	≤ 0.125	2	1
34	-	-	0
35	≤ 0.125	≤ 0.125	2
36	>64	>64	2
37	>64	>64	2
38	>64	>64	2
39	-	-	0
40	-	-	0
41	0.25	≤ 0.125	1
42	-	-	0
43	-	-	0
44	≤ 0.125	>64	1
45	0.5	>64	2
46	64	>64	2
47	-	-	0
48	≤ 0.125	0.25	2
49	-	-	0
50	>64	>64	1
51	-	-	0
52	>64	>64	2
53	-	-	0
54	>64	>64	1
55	≤ 0.125	>64	1
56	4	>64	2
57	-	-	0
58	-	-	0
59	>64	>64	2
60	-	-	0
61	≤ 0.125	>64	1

62	-	-	0
63	-	-	0
64	≤ 0.125	>64	1
65	≤ 0.125	>64	2
66	≤ 0.125	>64	2
67	-	-	0
68	≤ 0.125	≤ 0.125	1
69	-	-	0
70	≤ 0.125	64	2
71	-	-	0
72	-	-	0
73	0.25	>64	1
74	-	-	0
75	-	-	0
76	-	-	0
77	-	-	0
78	-	-	0
79	≤ 0.125	≤ 0.125	2
80	-	-	0
81	-	-	0
82	≤ 0.125	≤ 0.125	2
83	-	-	0
84	≤ 0.125	64	1
85	≤ 0.125	≤ 0.125	2
86	-	-	0
87	0.25	>64	1
88	-	-	0
89	≤ 0.125	≤ 0.125	1
90	-	-	0
91	≤ 0.125	>64	2
92	-	-	0
93	-	-	0
94	-	-	0
95	≤ 0.125	64	2
96	≤ 0.125	0.25	1
97	-	-	0
98	64-32	>64	1
99	-	-	0
100	-	-	0
101	0.25	>64	1
102	-	-	0
103	-	-	0
104	-	-	0
105	-	-	0
106	-	-	0

107	≤ 0.125	> 64	1
108	≤ 0.125	> 64	1
109	-	-	0
110	> 64	> 64	1
111	-	-	0
112	≤ 0.125	> 64	1
113	≤ 0.125	> 64	1
114	-	-	0
115	-	-	0
116	-	-	0
117	-	-	0
118	≤ 0.125	> 64	2
119	-	-	0
120	-	-	0
121	≤ 0.125	≤ 0.125	1
122	≤ 0.125	≤ 0.125	1
123	≤ 0.125	> 64	2
124	≤ 0.125	≤ 0.125	1
125	32	> 64	2
126	≤ 0.125	≤ 0.125	2
127	≤ 0.125	> 64	1
128	-	-	0
129	-	-	0
130	-	-	0
131	≤ 0.125	≤ 0.125	1
132	-	-	0
133	≤ 0.125	≤ 0.125	1
134	-	-	0
135	-	-	0
136	> 64	> 64	1
137	-	-	0
138	-	-	0
139	≤ 0.125	> 64	1
140	-	-	0
141	0.5	≤ 0.125	1
142	-	-	0
143	-	-	0
144	≤ 0.125	≤ 0.125	2
145	0.25	> 64	1
146	-	-	0
147	≤ 0.125	> 64	1
148	0.25	> 64	2
149	-	-	0
150	> 64	> 64	2
151	-	-	0

152	≤ 0.125	>64	1
153	≤ 0.125	≤ 0.125	2
154	-	-	0
155	-	-	0
156	-	-	0
157	-	-	0
158	-	-	0
159	-	-	0
160	-	-	0
161	1	>64	2
162	≤ 0.125	≤ 0.125	1
163	-	-	0
164	-	-	0
165	-	-	0
166	0.25	>64	1
167	≤ 0.125	>64	1
168	≤ 0.125	>64	1
169	-	-	0
170	-	-	0
171	-	-	0
172	-	-	0
173	-	-	0
174	-	-	0
175	-	-	0
176	-	-	0
177	≤ 0.125	>64	1
178	-	-	0
179	-	-	0
180	-	-	0
181	≤ 0.125	≤ 0.125	1
182	32	>64	1
183	0.25	>64	1
184	-	-	0
185	-	-	0
186	-	-	0
187	-	-	0
188	0.25	>64	1
189	1	1	1
190	-	-	0
191	-	-	0
192	-	-	0
193	-	-	0
194	-	-	0
195	≤ 0.125	0.5	1
196	-	-	0

197	-	-	0
198	-	-	0
199	-	-	0
200	≤0.125	≤0.125	2
201	-	-	0
202	0.5	≤0.125	1
203	-	-	0
204	-	-	0
205	-	-	0

Antibiyofilm çalışılan 48, 52, 56, 91 ve 118'no lu izolatların geniş dilüsyon aralığı ile tekrarlanan MİK sonuçları meropenem için sırasıyla 0.125, 512, 4, 0.125 ve 0.125; seftriakson için sırasıyla 0.25, >512, >512, 256 ve >512 olarak tespit edilmiştir.

Antibiyofilm aktivitesi çalışılan 48, 52, 56, 91 ve 118 nolu suşların meropenem ve seftriakson MİK sonuçlarına göre sub-MİK değerleri (MİK/2, MİK/4, MİK/8) belirlenmiştir. Buna göre meropenem için 48'nolu izolatın MİK değeri 0.125, sub-MİK değerleri 0.06, 0.03 ve 0.015; 52'nolu izolatın MİK değeri 512, sub-MİK değerleri 256, 128 ve 64; 56'nolu izolatın MİK değeri 4, sub-MİK değerleri 2, 1 ve 0.5; 91'nolu izolatın MİK değeri 0.125, sub-MİK değerleri 0.06, 0.03 ve 0.015; 118'nolu izolatın MİK değeri 0.125, sub-MİK değerleri 0.06, 0.03 ve 0.015 olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde seftriakson için 48'nolu izolatın MİK değeri 0.25, sub-MİK değerleri 0.125, 0.06 ve 0.03; 52'nolu izolatın MİK değeri >512, sub-MİK değerleri 512, 256 ve 128; 56'nolu izolatın MİK değeri >512, sub-MİK değerleri 512, 256 ve 128; 91'nolu izolatın MİK değeri 256, sub-MİK değerleri 128, 64 ve 32; 118'nolu izolatın MİK değeri >512, sub-MİK değerleri 512, 256 ve 128 olarak belirlenmiştir. Antibiyofilm aktivitesi çalışılan izolatların MİK ve test edilen sub-MİK değerleri toplu olarak Tablo 4.2. 'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Antibiyofilm aktivitesi çalışılan izolatların MİK ve test edilen sub-MİK değerleri

İzolat No	Meropenem (µg/ml)				Seftriakson (µg/ml)			
	MİK	MİK/2	MİK/4	MİK/8	MİK	MİK/2	MİK/4	MİK/8
48	0.125	0.06	0.03	0.015	0.25	0.125	0.06	0.03
52	512	256	128	64	>512	512	256	128
56	4	2	1	0.5	>512	512	256	128
91	0.125	0.06	0.03	0.015	256	128	64	32
118	0.125	0.06	0.03	0.015	>512	512	256	128

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda biyofilm üreten izolatların meropenem ve seftriakson antibiyotiklerine duyarlı-dirençli olma durumları ile zayıf (+1) ve orta (+2) güçte biyofilm oluşturma arasında anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

4.3. Antibiyofilm Sonuçları

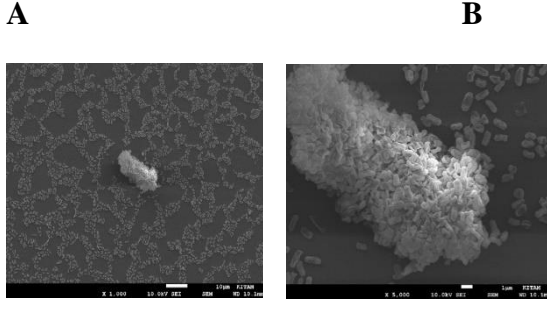
Meropenem sub-MİK biyofilm inhibisyon çalışılan 5 izolat içinde 56'nolu izolatın MİK/2 konsantrasyonunda (2 µg/ml) biyofilm inhibisyonu gözlenmiş bu izolatın çalışılan diğer sub-MİK konsantrasyonlarında ve diğer izolatların (48, 52, 91 ve 118) hiçbir sub-MİK konsantrasyonunda inhibisyon gözlenmemiştir. Seftriakson sub-MİK biyofilm inhibisyon çalışılan 5 izolatın hiçbir konsantrasyonunda biyofilm inhibisyon gözlenmemiştir. Bazı izolatların çeşitli sub-MİK değerlerinde (Örneğin; 52. izolat meropenem MİK/2, 118. izolat meropenem MİK/8; 48. izolat seftriakson MİK/2, MİK/4, MİK/8) biyofilm üretim gücünde artış görülmüştür. Antibiyofilm aktivitesi çalışılan izolatların tesdedilen sub-MİK değerlerinin biyofilm inhibisyon sonuçları toplu olarak Tablo 4.3. 'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Antibiyofilm aktivitesi çalışılan izolatların test edilen sub-MİK değerlerinin biyofilm inhibisyon sonuçları

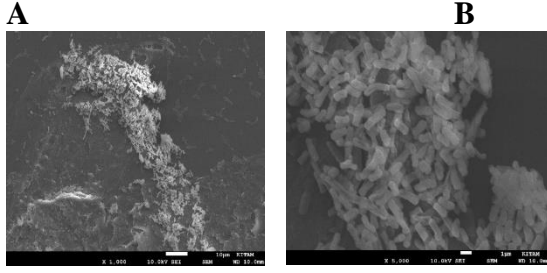
İzolat No	Biyofilm Kontrol	Meropenem			Biyofilm Kontrol	Seftriakson		
		MİK/2	MİK/4	MİK/8		MİK/2	MİK/4	MİK/8
48	-	0.06	0.03	0.015	-	0.125	0.06	0.03
	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3
52	-	256	128	64	-	512	256	128
	+2	+3	+2	+2	+2	+2	+2	+2
56	-	2	1	0.5	-	512	256	128
	+2	0	+2	+2	+2	+2	+2	+2
91	-	0.06	0.03	0.015	-	128	64	32
	+1	+1	+1	+2	+1	+1	+1	+2
118	-	0.06	0.03	0.015	-	512	256	128
	+2	+2	+2	+3	+2	+1	+2	+2

4.4. SEM Görüntüleri

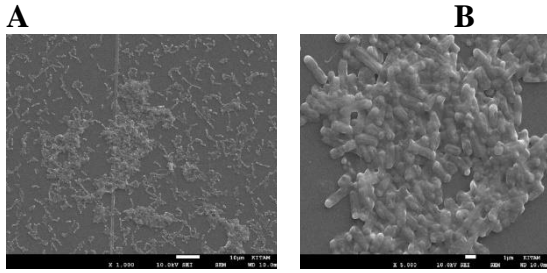
Sub-MİK değerleri ile antibiyofilm aktivitesi çalışılan 48, 52, 56, 91 ve 118 no lu izolatların 1000'lik ve 5000'lik büyütmelede SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.3., Şekil 4.4., Şekil 4.5., Şekil 4.6. ve Şekil 4.7. de görülmektedir.



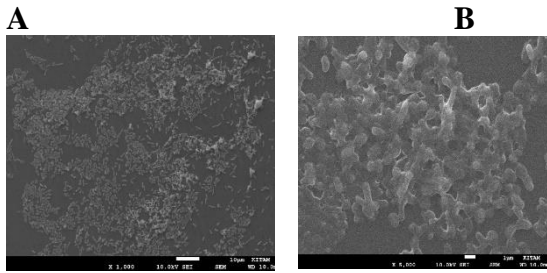
Şekil 4.3. 48'no lu izolattın 1000(A) ve 5000(B) büyütmele SEM görüntüleri



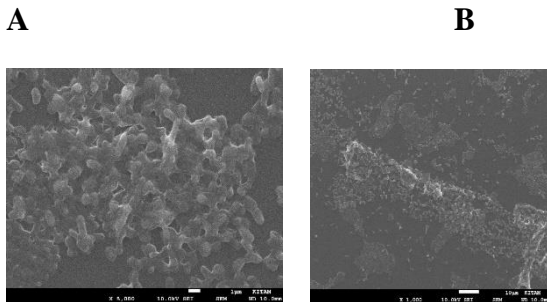
Şekil 4.4. 52'no lu izolattın 1000(A) ve 5000(B) büyütmele SEM görüntüleri



Şekil 4.5. 56'no lu izolattın 1000(A) ve 5000(B) büyütmele SEM görüntüleri



Şekil 4.6. 91'no lu izolattın 1000(A) ve 5000(B) büyütmele SEM görüntüleri



Şekil 4.7. 118'no lu izolattın 1000(A) ve 5000(B) büyütmele SEM görüntüleri

5. TARTIŞMA

Klebsiella türleri içinde toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilen mikroorganizmalar bulunmaktadır (Köseoğlu Eser vd., 2014). *K. pneumoniae* genellikle bağışıklığı baskılanmış ve hastanede yatan hastaları etkileyen ve üriner sistem, yumuşak doku, pnömoni ve bakteriyemiye neden olabilen fırsatçı bir patojendir (Cescutti et al., 2016). Ayrıca *K. pneumoniae*'nin antibiyotik tedavisinin etkinliğini değiştirebilecek şekilde biyofilm oluşturabilen bir bakteri olabildiği de bilinmektedir (Borges et al., 2015 ; Yang ve Zhang, 2008).

Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae familyası üyeleri, idrar yolu, solunum yolu, karın içi, deri ve yumuşak doku ve pnömoni gibi birçok önemli hastane enfeksiyonuna neden olan mikroorganizmalardır. Bu gruptaki *K. pneumoniae* suşlarının toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarda en sık görülebilen mikroorganizmalardan olduğu bildirilmiştir (Bradford et al., 2001).

İdrar yolu enfeksiyonu, her yıl dünya çapında yaklaşık 150 milyon kişiyi etkileyen çeşitli patojenlerin neden olduğu bakteriyel enfeksiyonlardan biridir ve ciddi bir sağlığı sorunudur (Flores-Mireles et al., 2015). Ayrıca kateter ilişkili idrar yolu enfeksiyonları, hastane kaynaklı enfeksiyonların %17,2'si gibi önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Percival vd., 2015).

Ott ve arkadaşları yaptıkları çalışmada üriner sistem enfeksiyonlarının, hastane enfeksiyonlarının %16'sını ve toplum kökenli enfeksiyonların %9'unu oluşturduğu bildirmişlerdir (Ott et al., 2013).

Mikrobiyal kolonizasyon nedeniyle kateter yüzeylerinde oluşan biyofilmler, kateter ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarının başlıca nedenlerinden biridir. Bu aletlerin kontaminantları olarak en sık karşılaşılan mikroorganizmalardan biri *K. pneumoniae* ve diğer Gram-negatif bakterilerdir (Donlan, 2001; Stickler, 2008).

Müller-Schulte ve ark. inceledikleri 107 *K. pneumoniae* vakasının %29'u (n=31) pediatrik, %24,3'ü (n=26) dahiliye, %14'ü (n=15) yoğun bakım, %10,3'ü (n=11) üroloji ve %22,4'ü (n=24) diğer servislerden izole olduklarını bildirmişlerdir (Müller-Schulte et al., 2020).

Kuş vd., çalışmalarında kullanılan 53 *K. pneumoniae* suşundan 12'si (%22,6) resüsitasyon yoğun bakım ünitelerinde, 8'i (%15,1) tıbbi onkoloji servislerinde, 7'si

(%13,2) yenidoğan yoğun bakım odasında, 26 suşu (49 %) başka, klinikte yatan hastalardan izole edildiğini bildirmişlerdir (Kuş vd., 2017).

Çalışmamızda dahil edilen 205 *K. pneumoniae*'nin izole edildiği idrar örneklerinin gönderildiği servislerin dağılımı; nöroloji %10.76 (n=22), nefroloji %9.77 (n=20), üroloji %8.79 (n=18), yoğun bakım % 7.81 (n=16), onkoloji %6.83 (n=14), hematoloji %6.35 (n=13), ve diğerleri %49.69 (n=102) şeklinde sıralanmaktadır.

K. pneumoniae izolatlarının dahil edilerek yapıldığı çeşitli çalışmalarda bu izolatların farklı oranlarda ve güçlerde biyofilm ürettiği tespit edilmiştir (Yan ve Zhang., 2008; Hassan vd., 2011; Bjarnsholt, 2013; Seifi et al., 2016; Cepas et al., 2019).

Hassan vd., yapmış oldukları çalışmada test edilen 110 *K. pneumoniae* izolatının 70 (%64,7)'ini yüksek veya orta, 40 (%35,3)'ünde zayıf biyofilm üreticileri olarak tanımlamışlardır (Hassan vd., 2011).

Başka bir çalışmada Cepas vd., *K. pneumoniae* suşlarının %37.6'sının biyofilm üreticisi olduğunu bildirmişlerdir (Cepas et al., 2019).

Yang ve Zhang, idrar, balgam, yara sürüntüleri ve kandan izole edilen *K. pneumoniae*'nin %62,5'inin biyofilm üreticisi olduğunu bildirmişlerdir (Yang ve Zhang., 2008).

Bjarnsholt, *K. pneumoniae* izolatlarının yüksek bir yüzdesinin (%74,5) biyofilm oluşturabildiği ve %20,4'ünün güçlü biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğu bildirmiştir (Bjarnsholt, 2013).

Seifi vd., yaptıkları çalışmada, çalışmaya dahil edilen *K. pneumoniae* izolatların %93,6 biyofilm üreticisi olduğunu ve sadece %6,4'ünün biyofilm üreticisi olmadığını bildirmişlerdir. Biyofilm üreten suşların %33'ü güçlü biyofilm üreticisi, %52.1'i orta derecede biyofilm üreticisi ve %8.5'i zayıf biyofilm üreticisi olarak kategorize edilmiştir (Seifi et al., 2016).

Çalışmamıza dahil edilen 205 izolatın 119 (%58.05)'u biyofilm oluşturmadığı, 86 (%41.95)'inin biyofilm oluşturduğu görülmüştür. Biyofilm oluşturan izolatların 56 (%27.32)'sı düşük kuvvette (+1), 30 (%14.63)'u orta kuvvette (+2) biyofilm

oluşturmuştur. Biyofilm oluşturan izolatların hiç birinde güçlü (+3) biyofilm oluşumu tespit edilememiştir.

Domenico ve ark. çalışmalarında 135 izolatın %27.5'i yüksek, %26'sı orta ve %29.2'si zayıf biyofilm üreticileri olarak sınıflandırmış. Ayrıca *K. pneumoniae*'yı %60 oranında MDR fenotipine sahip olup, meropenem %33.3 oranında dirençli bulunmuştur. Bununla birlikte hem MDR %74.4 hem de MDR olmayan %78.9 suşlarında biyofilm üretme konusunda karşılaştırıldığında, iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir (Domenico et al., 2017).

Shadkam ve ark. meropenem, seftriakson, antibiyotikleri için güçlü biyofilm oluşturanların direnç oranları sırasıyla %56, %52; biyofilm oluşturmeyen izolatların direnç oranlarını sırasıyla %32, %32 şeklinde bulmuşlardır. Biyofilm üreten *K. pneumoniae* suşları arasında antimikrobiyal direnç, biyofilm üretmeyen *K. pneumoniae* suşlarına göre anlamlı derecede yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir (Shadkam et al., 2020).

Mishra vd., meropenem dirençli gram negatif bakterilerin daha yüksek bir biyofilm oluşturma kabiliyetine sahip olduğunu bildirmişlerdir (Mishra et al., 2015).

Bizim çalışmamızda yapılan istatistiksel analiz sonucunda çalışmaya dahil edilen ve biyofilm üreten izolatların, meropenem ve seftriakson antibiyotiklerine duyarlı-dirençli olma durumları ile zayıf (+1) ve orta (+2) güçte biyofilm oluşturma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı görülmüştür ($p>0,05$).

Bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneği, antibiyotik direncinin yayılmasını ve virülans genlerinin birikimini arttırmaktadır. Yeni terapötik stratejiler, geleneksel antibiyotikleri biyofilmlere müdahale eden bir maddeyle birleştiren bir ortak tedavi yaklaşımını hedef alarak biyofilmleri tedaviye daha duyarlı hale getirebilir (Saha et al., 2018).

Aires ve Batista çalışmalarının sonucunda *K. pneumoniae* izolatlarında biyofilm olgunlaştıkça seftriakson etkinliğinin azaldığını bildirmişlerdir (Aires ve Batista, 2017).

Ruiz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Endotrakeal tüplerde (ETT'ler) *K. pneumoniae* tarafından oluşturulan biyofilmlere karşı beş antimikrobiyalin in vitro etkilerini değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak, çalışmada ETT'lerde çeşitli

antimikrobiyallerin biyofilmler üzerindeki etkinliğinin 24 saat sonra azaldığı tespit edilmiştir (Ruiz et al., 2019).

Chaudhary ve Payasi GSBL üreten 15 *K. pneumoniae* izolatlarını kullanarak yaptıkları çalışmada, meropenem'in 64-256 µg/ml MİK değerlerine ve 2048-4096 µg/ml minimum biyofilm eradikasyon konsantrasyonuna (MBEC) sahip olduğunu ortaya konmuştur (Chaudhary ve Payasi, 2012).

Bakteriyel bir biyofilm yapısını ortadan kaldırmak için gereken uygun antibiyotik ve konsantrasyonunun seçilmesi için laboratuvarında inceleme yapılması gerekmektedir (Saha et al., 2018).

Van Laar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada karbapenem ile öldürücü olmayan konsantrasyonlarda muamele edilen *K. pneumoniae* biyofilmlerini hem morfolojide hem de genomik ekspresyonda spesifik olarak nasıl etkilediğini araştırmışlardır. Sonuç olarak araştırmacılar *K. pneumoniae* biyofilmlerinin öldürücü olmayan konsantrasyonlarda karbapenemlerle muamele edilmesinin, çok çeşitli fenotipik ve gen ekspresyonu değişikliklerine neden olabileceğini ortaya koymuşlardır (Van Laar et al., 2015).

Çalışmaya dahil edilen ve orda derecede (+2) biyofilm oluşturan 48, 52, 56, 91 ve 118 nolu izolatlardan 56 nolu izolatın MİK/2 değeri olan 2 µg/ml meropenemde biyofilm önlenimi görülmüştür. Diğer meropenem ve tüm seftriakson sub-MİK değerlerinde biyofilm önlenim tespit edilememiştir. Bunun yanında bazı izolatların çeşitli sub-MİK değerlerinde (Örneğin; 52. izolat meropenem MİK/2, 118. izolat meropenem MİK/8; 48. izolat seftriakson MİK/2, MİK/4, MİK/8) biyofilm üretim gücünde artış görülmüştür.

Çalışmamızda kısıtlı sayıda mikroorganizmanın meropenem ve seftriakson için sub-MİK değerleri araştırılabilmiştir. Antibiyotiklerin sub-MİK değerlerinin biyofilm üretimini nasıl etkilediği ile ilgili yeterli ve net verilerin olmadığı düşünülmektedir. Bu konunun anlaşılabilmesi ve netlik kazanabilmesi için farklı antibiyotiklerin ve mikroorganizmaların dahil edildiği geniş çaplı çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Ancak bu sayede biyofilm oluşumunun önlenilebileceği protokollerin geliştirilmesi mümkün olabilecektir.

6. SONUÇ

1. Çalışmaya dahil edilen 205 izolatın 119 (%58.05)'u biyofilm oluşturmadığı, 86 (%41.95)'inin biyofilm oluşturduğu görülmüştür.
2. Biyofilm oluşturan izolatların 56 (%27.32)'sı düşük kuvvette (+1), 30 (%14.63)'u orta kuvvette (+) biyofilm oluşturmuştur.
3. Biyofilm üreten izolatların meropenem ve seftriakson duyarlı-dirençli olma durumları; zayıf (+1) ve orta (+2) güçte biyofilm oluşturma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı görülmüştür.
4. +2 derecede biyofilm oluşturan 48, 52, 56, 91 ve 118 nolu izolatlardan 56 nolu izolatın MİK/2 değeri olan 2 µg/ml meropenemde biyofilm önlenimi görülmüştür.
5. Diğer meropenem ve tüm seftriakson sub-MİK değerlerinde biyofilm önlenimi tespit edilememiştir.
6. Bazı izolatların çeşitli sub-MİK değerlerinde (Örneğin; 52. izolat meropenem MİK/2, 118. izolat meropenem MİK/8; 48. izolat seftriakson MİK/2, MİK/4, MİK/8) biyofilm üretim gücünde artış görülmüştür.
7. Antibiyotiklerin sub-MİK değerlerinin biyofilm üretimini nasıl etkilediği ile ilgili yeterli ve net verilerin olmadığı düşünülmektedir.
8. Bu konunun anlaşılabilmesi ve netlik kazanabilmesi için farklı antibiyotiklerin ve mikroorganizmaların dahil edildiği geniş çaplı çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Ancak bu sayede biyofilm oluşumunun önlenilebileceği protokollerin geliştirilmesi mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

- Aires, C. P., Batista, M. J. A., Pitondo-Silva, A. (2017). Decrease of ceftriaxone susceptibility in *Klebsiella pneumoniae* according to biofilm maturation. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 9. 126-127.
- Akalın, H. (2003). *Çoğul Dirençli Gram Negatif Bakteriler*. Bilimsel Tıp Yayınevi, s.269-287.
- Aktaş, E. (2013). *Sıvı mikrodilüsyon MİK plaklarının hazırlanması*. Başustaoğlu A, Yıldırım Ş.T., Editörler. Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El Kitabı (Çeviri). 3. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 5.15.
- Akçay, T., Taşkın, N., Akçay A., vd. (2004). Üriner Sistem İnfeksiyonlarına Tanısal Yaklaşım. *İstanbul Tıp Dergisi* . 1:27-30.
- Allison, DG. (2003). The biyofilm matrix. *Biofouling*. 19 (2): 139- 150.
- Aladağ, M., Durak, Y. (2007). Üriner Sistem Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae*'ların Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi* .2(4): 40-50.
- Borges, A., Saavedra, M., Simoes, M., (2015) .Insights on antimicrobial resistance, biofilms and the use of phytochemicals as new antimicrobial agents. *Current Medicinal Chemistry*. vol. 22, no. 21, pp. 2590–2614.
- Bilgehan, H. (1992). Enterobacteriaceae. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. İzmir: Barış Yayınları. Fakülteler Kitabevi. 425-451.
- Bilgehan, H. (2000). *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları (Uygulama Konuları ile)*. 10. Baskı, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir. s.3-17.
- Bjarnsholt, T. (2013). The role of bacterial biofilms in chronic infections, *APMIS*. vol. 121, pp. 1–58.
- Björkstén, B., Kaijser, B. (1978). Interaction of human serum and neutrophils with *Escherichia coli* strains: differences between strains isolated from urine of patients with pyelonephritis or asymptomatic bacteriuria. *Infect. Immun*, 22: 308-11.
- Borucki, MK., Peppin, JD., White, D., Loge, F., Call, DR. (2003). Variation in biofilm formation among strains of *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microb*. 69(12), 7336-42.
- Bradford, P. (2001). Extended-Spectrum b-Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. *Clin Microbiol Rev*. 14(4): 933-951.
- Bush, K. (2012).Improving known classes of antibiotics: an optimistic approach for the future. *Curr Opinion Pharmacol*. 12:527-34.
- Clavenna A, Bonati M. Differences in antibiotic prescribing in paediatrics outpatients. (2011). *Arch Dis Child*. 96:590-5.
- Campoli-Richards, D. M., Monk, J. P., Price, A., Benfield, P., Todd, P. A., & Ward, A. (1988). Ciprofloxacin. *Drugs*, 35(4), 373-447.
- Cescutti, P., De Benedetto, G., Rizzo, R. (Jul-2016). Structural determination of the polysaccharide isolated from biofilms produced by a clinical strain of *Klebsiella pneumoniae*, *Carbohydr Res* , 22;430:29-35. doi: 10.1016/j.carres.2016.05.001. Epub 2016 May 5. PMID: 27182661.
- Cepas, V., Lopez, Y., Munoz, E., Rolo, D., Ardanuy, C., Marti, S., Xercavins, M., Horcajada,JP., Bosch, J., Soto, SM. (2019). Relationship between biofilm formation

- and antimicrobial resistance in gram-negative Bacteria. *Microb Drug Resist* . 25(1):72–9.
- Chaudhary, M., ve Payasi, A. (2012). Role of EDTA and CSE1034 in curli formation and biofilm eradication of *Klebsiella pneumoniae*: a comparison with other drugs. *The Journal of Antibiotics*. 65(12), 631-633.
- Chusri, S., Phatthalung, P. N., Voravuthikunchai, S. P. (2012). Anti-biofilm activity of *Quercus infectoria* G. Olivier against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology*. 54(6), 511-517.
- Chae, MS., ve Schraft, H. (2000). Comparative evaluation of adhesion and biofilm formation of different *Listeria monocytogenes* strains. *Int J Food Microbiol*. 62(1), 103-111.
- Clegg, S., Gerlach, GF. (1987). Enterobacterial fimbriae. *J Bacteriol*. 169: 934938.
- Craig, WA. (1997). The pharmacology of meropenem, a new carbapenem antibiotic. *Pharmacotherapy*. 24: 266-275.
- Cryz, SJ., Fürer, E., Germanier, R. (1984). Experimental *Klebsiella pneumoniae* burn wound sepsis: role of capsular polysaccharide. *Infect. Immun*, 43: 440-1.
- Çiftçi, Z., (2005). “Kronik Tonsillit Biyofilmin Rolü”, Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi KBB Kliniği, İstanbul. 102-111.
- Doğruöz, N. (2014). Endüstriyel sistemlerde mikrobiyolojik korozyon ve önlenmesi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(1), 26-38.
- Domenico, P., Salo, RJ., Cross, AS., Cunha, BA. (1994). Polysaccharide capsule-mediated resistance to opsonophagocytosis in *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun*. 62(10): 4495-9.
- Domenico, P, Johanson, WG., Straus, DC. (1982). Lobar pneumonia in rats produced by clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*, *Infect. Immun*. 37: 327-35.
- Domenico, D. E. G., Farulla, I., Prignano, G., Gallo, M. T., Vespaziani, M., Cavallo, I., Sperduti, I., Pontene, M., Bordignon, V., Cilli, L., Santis, A. D., Salvo, F. D., Pimpinelli, F., Parola, I. L. L., Toma, L., Ensoli, F. (2017). Biofilm is a major virulence determinant in bacterial colonization of chronic skin ulcers independently from the multidrug resistant phenotype. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(5), 1077.
- Donnenberg, MS. (2010). *Enterobacteriaceae*. In: *Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious disease*. 7th ed. Elsevier Churchill Livingstone. 2815-2833.
- Donlan, R.M., and Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin microbiol rev* .15.2 167-93.
- Donlan R. M. (2001). Biofilms and device-associated infections. *Emerging Infectious Diseases*. 7 (2), 277.
- Donlan, R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*. 8 (9), 881-890.
- Duncan, DJA., Barr, DA., Seaton, RA. (2012). Outpatient parenteral antimicrobial therapy with ceftriaxone, a review. *Int J Clin Pharmacol* .34:410-7.
- Dündar, D. (2013). *Sıvı mikrodilüsyon MİK testi*. Başustaoğlu A, Yıldırım Ş.T., Editörler. Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El Kitabı (Çeviri) 3. Baskı, Ankara Atlas Kitapçılık.; 5.2.

- Ehrenwort, L., Baer, H. (1956). The pathogenicity of *Klebsiella pneumoniae* for mice: the relationship to the quantity and rate of production of type-specific capsular polysaccharide. *J Bacteriol.* 72: 713-17.
- Eisenstein, I.B, Zaleznik, F.D. (2000). *Principles and Practice of Infectious Diseases*, Churchill Livingstone. s.2294-2310.
- El Fertas-Aissani, R., Messai, Y., Alouache, S., Bakour, R. (2013). Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. *Pathol Biol (Paris)*. 61(5): 209-16.
- Erdem, B.(1999). *Enterobacteriaceae*. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara. Güneş Kitabevi. 471-480.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0, 2021. (<http://www.eucast.org>).
- Fish, DN., Singletary, TJ. (1997). *Meropenem, a new carbapenem antibiotic*. Pharmacotherapy. 17: 644-669.
- Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*. 13(5), 269-284.
- Gower, PE., Taylor, PW., Koutsaimanis, KG., Roberts, AP. (1972). Serum bactericidal activity in patients with upper and lower urinary tract infections, *Clin Sci*. 43: 13-22.
- Gür, D. (2014). *Enterik Gram Negatif Çomaklar (Enterobacteriaceae) Yenen S. O.*, editör. Tıbbi Mikrobiyoloji, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. İstanbul, s; 229-235.
- Gün, İ., Ekinci, FY. Gün, İ. (2009). Biyofilmler: Yüzeyledeki Mikrobiyal Yaşam. *GIDA*. 34 (3): 165- 73.
- Hassan, A., Usman, J., Kaleem, F., Omair, M., Khalid, A., Iqbal, M. (2011). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates, *BrazJ Infect Dis*. 15(4):305–11.
- Hennequin, C., Robin, F. (2016). Correlation between antimicrobial resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 35(3): 333-41.
- Highsmith, AK., Jarvis, WR. (1985). *Klebsiella pneumoniae*: selected virulence factors that contribute to pathogenicity, *Infect Control*. 6: 75-7.
- Hoiby, N. (2017). A short history of microbial biofilms and biofilm infections, *APMIS* .125(4): 272-5.
- Holt, KE., Wertheim, H., Zadoks, RN., et al. (2015). Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112(27): e3574-81.
- Hornick, DB., Allen ,BL., Horn, MA., Clegg, S. (1992). Adherence to respiratory epithelia by recombinant *Escherichia coli* expressing *Klebsiella pneumoniae* type 3 fimbrial gene products, *Infect. Immun*. 60: 1577-88.
- Işık, F. (2007). Kan kültürlerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz saptanmasında üç yöntemin karşılaştırılması ve antimikrobiyal duyarlılıklarının araştırılması. Uzmanlık tezi. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Konya
- Jagnow, J., Clegg, S. (2003). *Klebsiella pneumoniae* MrkD-Mediated Biofilm Formation on Extracellular on Extracellular Matrix and Collagen Coated Surfaces. *Microbiology* .149: 2397 – 2405

- Jones, GW., Isaacson, RE. (1983). Proteinaceous bacterial adhesins and their receptors. *Crit Rev Microbiol.*10: 229-60.
- Kabha, K., Nissimov, L., Athamna, A., Keisari, Y., Parolis, H., Parolis, LAS., Grue, RM., Schlepper-Shafer, J.,(1995). Ezekowitz ARB, Ohman DE, Ofek I. Relationships among capsular structure, phagocytosis, and mouse virulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Infect. Immun.* 63: 847-852.
- Kaleli, Ğ.; Demir, M.; Cevahir, N.; Yıldırım, U. (2006). *Klebsiella* Suşlarında Siderofor ve Serum Direncinin Araştırılması. *Enfeksiyon Dergisi.* 20(2): 97-101.
- Kepekçi, P. (2005). İdrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* Suşlarında Fosfomisin Trometamol Duyarlılığı. Uzmanlık Tezi. Okmeydanı eğitim ve araştırma hastanesi enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji kliniği.
- Khimji, PL., Miles, A.A. (1978). Microbial iron-chelators and their action on *Klebsiella* infections in the skin of guinea-pigs. *British J Exp Pathol.* 59: 137-47.
- Köseoğlu Eser, Ö., Altun Uludağ, H., Ergin, A., Boral, B., Şener, B., Haşcelik, G. (2014). İnvazif enfeksiyonlara neden olan GSBL pozitif Enterobacteriaceae izolatlarında karbapenem direnci. *Mikrobiyol Bulteni.* 48:59-69.
- Kuş, H., Arslan, U., Fındık, D. (2017). Investigation of various virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from nosocomial infections. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 51(4). 329-339.
- Li, W., Dong, K., Ren, J., Qu, X. (2016). β -Lactamase Imprinted Responsive Hydrogel for the Treatment of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Angew Chem Int Ed Engl.* 55(28):8049-8053.
- Miller, L.G.,Tang, A.W. (2004). Treatment of Uncomplicated Urinary Tract Infections in an Era of Increasing Antimicrobial Resistance. *Mayo Clin Proc.* 79:1048-1054.
- Mishra, SK., Basukala, P., Basukala, O., Parajuli, K., Pokhrel, BM., Rijal, BP. (2015) Detection of biofilm production and antibiotic resistance pattern in clinical isolates from indwelling medical devices. *Curr Microbiol* . 1:128–134.
- Müller-Schulte, E., Tuo, M. N., Akoua-Koffi, C., Schaumburg, F., & Becker, S. L. (2020). High prevalence of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* in clinical samples from central Côte d'Ivoire. *International Journal of Infectious Diseases.* 91, 207-209.
- Narasimhaswamy, N., Bairy, I., Manuel, A., Mathew, J., Shenoy, G., & Bairy, L. (2015). Invitro bactericidal activity of recombinant lysostaphin on biofilm producing methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 4(1), 822-830.
- National Center for Health Statistics. Health, United States, 2013: With Special Feature on Prescription Drugs. Hyattsville, MD. 2014.
- National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992-April 2000, issued June 2000. *American journal of infection control.* 28(6), 429–448. <https://doi.org/10.1067/mic.2000.110544>
- Ofek, I., Kabha, K., Athamna, A., Frankel, G., Wozniak, DJ., Hasty, DL., Ohman, DE. (1993). Genetic exchange of determinants for capsular polysaccharide biosynthesis between *Klebsiella pneumoniae* strains expressing serotypes K2 and K21a, *Infect. Immun.* 61: 4208-16.
- Old, DC., Tavendale, A., Senior, BW. (1985). A comparative study of the type-3 fimbriae of *Klebsiella* species. *J Med Microbiology* . 20: 203-14.

- Olling, S. (1977). Sensitivity of gram-negative bacilli to the serum bactericidal activity: a marker of the host parasite relationship in acute and persisting infections. *Scandinavian J Infect Dis.* 10(Suppl.): 1-40.
- O'Toole, G, Kaplan, H.B ve Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology.* 54(1), 49-79.
- Ott, E., Saathoff, S., Graf, K., Schwab, F. ve Chaberny, IF (2013). The prevalence of nosocomial and community acquired infections in a university hospital: an observational study. *Deutsches Ärzteblatt International* . 110 (31-32), 533.
- Öcal, D. N., Dolapçı, İ., Gençtürk, Z., & Tekeli, A. (2017). In vitro effect of vancomycin and daptomycin on biofilm formation of coagulase-negative staphylococci strains. *Mikrobiyoloji Bulteni.* 51(3), 220-235.
- Özden, M., Kalkan, A., Demirdağ, K., Kılıç, S.S., Özdarendeli, A. (2003). Üriner Sistem İnfeksiyonlarından İzole Edilen Escherichia coli Suşlarında Siprofl oksasin Ve Kotrimoksazol Direnci. *ANKEM Dergisi* . 17, (No.1):51-55.
- Özsüt, H (2002). *İdrar Yolu İnfeksiyonları. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi* Cilt-2 Ed.: Wilke Topçu A., Söyletir G., Doğanay M. Nobel Tıp Kitabevi, 1059-1064.
- Öztürk, B.Ş, Sakarya S, Öncü S, Ertuğrul, B.M. (2008). Biyofilmler ve Yabancı Cisim İnfeksiyonları , *Klinik Dergisi* . 21(3): 79 – 86.
- Percival, S. L., Suleman, L., Vuotto, C., Donelli, G. (2015). Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. *Journal of medical microbiology.* 64(4), 323-334.
- Podschun, R., Heineken, P., Sonntag, HG. (1987). Hemagglutinins and adherence properties to HeLa and Intestine 407 cells of Klebsiella pneumoniae and Klebsiella oxytoca isolates. *Zentral Bakteriolog.* 263: 585-93.
- Podschun, R., Penner, I., Ullmann, U. (1992). Interaction of Klebsiella capsule type 7 with human polymorphonuclear leucocytes. *Microbial Pathology.* 13: 371-9.
- Podschun, R., Ullmann, U. (1992). Isolation of Klebsiella terrigena from clinical specimens. *European J. Clin. Microbiol Infectious Diseases.* 11: 349-52.
- Presterl, E., Grisold, A. J., Reichmann, S., Hirschl, A. M., Georgopoulos, A., & Graninger, W. (2005). Viridans streptococci in endocarditis and neutropenic sepsis: biofilm formation and effects of antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 55(1), 45-50.
- Ristuccia, PA., Burke, BA. (1984). *Clinical Microbiology.* SHEA. 5(7): 343-348.
- Roantree, RJ., Rantz, LA. (1960). A study of the relationship of the normal bactericidal activity of human serum to bacterial infection. *Journal of Clinical Investigation.* 39: 72-81.
- Ruiz, J., Sanjuan, E., Amaro, C., Gordon, M., Villarreal, E., Castellanos-Ortega, Á., & Ramirez, P. (2019). In vitro study of antimicrobial activity on Klebsiella pneumoniae biofilms in endotracheal tubes. *Journal of Chemotherapy.* 31(4), 202-208.
- Saha, A., Devi, KM., Damrolien, S., Devi, KS. Krossnunpuii, Sharma, KT. (2018). Biofilm production and its correlation with antibiotic resistance pattern among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in a tertiary care hospital innorth-East India. *Int J Adv Med.* 5(4):964–8.
- Seifi, K., Kazemian, H., Heidari, H., Rezagholizadeh, F., Saeed, Y., Shirvani, F., Hour, H. (2016). Evaluation of Biofilm Formation Among Klebsiella pneumoniae Isolates and Molecular Characterization by ERIC-PCR. *Jundishapur J Microbiol.* 9(1): e30682.

- Schachter ,B.(2003). *Slimmy business: the biotechnology of biofilms*. Nature biotechnology. 21: 361-365.
- Shadkam, S., Goli, H. R., Mirzaei, B., Gholami, M., & Ahanjan, M. (2021). Correlation between antimicrobial resistance and biofilm formation capability among *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from hospitalized patients in Iran. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 20(1), 1-7.
- Siquera, J., Roças, I. (2007). Bacterial Pathogenesis and in apical Peridontitis. *BrazJ Infect Dis*. 18: 267-280.
- Stickler, D. J. (2008). Bacterial biofilms in patients with indwelling urinary catheters. *Nature Clinical Practice Urology*. 5 (11), 598-608.
- Şimsek, N.,Bulut, E. (2012).Biyofilm ve Endodonti: Bölüm 1. *İnönü Üniversitesi Sağlık Dergisi*. 2: 1-5.
- Tarkkanen, AM., R, Virkola., S, Clegg., TK, Korhonen. (1997). Binding of the type 3 fimbriae of *Klebsiella pneumoniae* to human endothelial and urinary bladder cells. *Infect. Immun*. 65:1546–49.
- Topçu, AW., Söyletir ,G., Doğanay, M. (2008). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevi. s:294-302; 2126-2149.
- Toreci, K.(2002). *Klebsiella türleri*. Willke Topçu A., Söyletir G., Doğanay M., editörler., Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi, Nobel tıp kitapçevleri, 2. Baskı. s; 1575-1608.
- Ustaçelebi, Ş. (1999). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Güneş Kitabevi. 25-46.
- Van Laar, TA., Chen, T., You, T., Leung, KP. (2015). Sublethal concentrations of carbapenems alter cell morphology and genomic expression of *Klebsiella pneumoniae* biofilms . *Antimikrobiyal. AjanlarChemother*. 59:1707. doi: 10.1128/AAC.04581-14.
- Vuong, C., Otto, M. (2002). Staphylococcus epidermidis infections. *Microb Infect*. 4: 481-489.
- Vuotto, C., Longo, F., Balice, MP., Donelli, G., Varaldo, PE. (2014). Antibiotic resistance related to biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae*. *Pathogens*. 3(3): 743-58.
- D, Yang ve Zhang, Z. (2008). Biofilm-forming *Klebsiella pneumoniae* strains have greater likelihood of producing extended-spectrum β -lactamases. *Journal of Hospital Infection* .vol. 68, no. 4, pp. 369–371.
- Yokochi, T., Nakashima, I., Kato, N. (1977). Effect of capsular polysaccharide of *Klebsiella pneumoniae* on the differentiation and functional capacity of macrophages cultured in vitro, *Microbiol Immun*. 21: 601-10.
- Yokochi, T., Nakashima, I., Kato, N. (1979). Further studies on generation of macrophages in in vitro cultures of mouse spleen cells and its inhibition by the capsular polysaccharide of *Klebsiella pneumoniae*.*Microbiol Immun*. 23: 487-99.
- Williams, P., Lambert ,PA., Brown, MRW., Jones, RJ. (1983). The role of the O and K antigens in determining the resistance of *Klebsiella aerogenes* to serum killing and phagocytosis.*J Gen Microbiol*. 129: 2181- 91.
- Wu, M.C., Lin, T.L., Hsieh, P.F., Yang, H.C., Wang, J.T. (2010). TreC Contributes to Biofilm Formation and In Vitro Colonization of *Klebsiella Pneumoniae* Strains Causing Pyogenic Liver Abscess, *20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Disease (ECCMID)*. 77-82.
- Würker, M., J, Beuth., HL, Ko., A, Przondo-Mordarska., G, Pulverer. (1990). Type of fimbriation determines adherence of *Klebsiella* bacteria to human epithelial cells. *Zentralbl. Bakteriol*. 274:239–45.

EKLER

EK-1



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/869

31.12.2020

Sayın Dr. Öğretim Üyesi Kemal BİLGİN

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz **Klebsiella pneumoniae İzolatlarında Meropenem ve Seftriakson Sub-Minimal İnhibitör Konsantrasyonlarının Biyofilm Oluşumuna Etkisinin Araştırılması** başlıklı OMÜ KAEK 2020/738 Karar nolu Mikrobiyoloji çalışması nitelikli araştırma projeniz Klinik Araştırmalar Etik Kurulu yönergesine göre 30.12.2020 tarihli Etik Kurulumuzda incelenmiş etik açıdan uygun bulunmuştur. Ancak araştırmanın yapılacağı yerlerdeki ilgili kurumlardan izin yazısı alınmadığından ilgili kurumlardan izin yazısı alınıp, tarafımıza bildirilmesinden sonra **başlanmasına** oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.

Prof. Dr. Ramis ÇOLAK
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

ÖZ GEÇMİŞ

Shahin SHOJAEI BADR, Tebriz Boueli Lisesi'ni bitirdikten sonra Marmara Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri bölümünden 2014 tarihinde mezun oldu. Daha sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünden 10.06.2019 tarihinde mezun oldu. 2019 yılında OMÜ LEE Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi. Mezuniyetinden bu yana öğrenci olarak görev yapan Shahin SHOJAEI BADR, orta derecede İngilizce bilmektedir. Temel ilgi alanları spordur.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0003-3568-5591

Yayınlar:

1. Poliklinik örneklerinden elde edilen *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında biyofilm üretiminin araştırılması. (2020). Bilgin, K., Nalbant, G., Shojaei Badr, Sh., Gür Vural, D., Tanrıverdi Çaycı, Y., Birinci, A. TMC Çevrim İçi Mikrobiyoloji Sempozyumu. PS-019.
2. İdrar Örneklerinden İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Biyofilm Oluşumunun Araştırılması. (2021). Shojaei Badr, Sh., Bilgin, K., Tanrıverdi Çaycı, Y., Birinci, A. 6. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Hibrid Kongresi. PS-043.

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

- 1.-
- 2.-